

**VERHALTEN DES MENSCHLICHEN
HYDROXYPROLINSTOFFWECHSELS BEI VARIATION
DER LUFTFEUCHTIGKEIT UND TEMPERATUR
WÄHREND EINES LANGFRISTIGEN AUFENTHALTES
IN DER BIOKLIMAKAMMER.**

Rainer-Michael Siebert

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553810_0045

Aus dem
Institut für Medizinische Balneologie und
Klimatologie der Universität München

Vorstand: Professor Dr. med. H. Drexel

VERHALTEN DES MENSCHLICHEN HYDROXYPROLINSTOFF-
WECHSELS BEI VARIATION DER LUFTFEUCHTIGKEIT UND
TEMPERATUR WÄHREND EINES LANGFRISTIGEN AUFENT-
HALTES IN DER BIOKLIMAKAMMER.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der Zahnheilkunde
an der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Rainer-Michael Siebert
aus München
Jahr
1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Drexel
Mitberichterstatter: Dipl. Phys. K. Dirnagl
Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 17.1.78



Inhalt

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	2
3. Fragestellung	9
4. Material und Methoden	10
41. Methodik der automatisierten Hydroxyprolinbestimmung	10
413. Reagenzien	14
42. Hydrolyse	14
43. Versuchsablauf KK 3	18
11 Charakresistik	18
12 Versuchspersonen	18
13 Versuchszeit	18
14 Versuchsort	18
15 Versuchsablauf	19
16 Versuchsdurchgang	20
17 Urinproben	20
18 Speisen	20
19 Getränke	20
5. Auswertung und Ergebnisse	24
50. Allgemeine Vorbemerkungen	24
51. Einfache Auswertungsverfahren	32
52. Die halbquantitative Kurvenauswertung	36
53. Beschreibung der Hydroxyprolin-Konzen- trations- und -Mengen-Kurven	45
54. Beschreibung der einzelnen Kurven	47
55. Das Verhalten der Amplituden	63
6. Das Verhalten der Mittelwerte an ausgewählten Terminen	68
7. Vorläufiges Gesamtergebnis	71
8. Diskussion	71
9. Zusammenfassung	78
10. Literaturverzeichnis	81

1 Einleitung

"Das Wetter macht mich krank!" Diesen Ausspruch kennt man seit jeher. Auch die Behauptung, daß dieses Wetter gesund sei, jenes aber ungesund, geistert in der Bevölkerung herum.

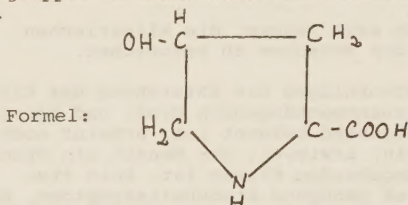
So versucht man seit langem, die klimatischen Einflüsse auf den Menschen zu erforschen.

Während den Meteorologen die Entstehung des Klimas und der damit zusammenhängenden Groß- und Kleinwetterlage weitgehend bekannt ist, scheint noch ungelöst zu sein, inwieweit der Mensch ein Spielball des ihn umgebenden Klimas ist. Rein statistisch gibt es genügend Krankheitssymptome, die sich bei bestimmten Wettervorgängen häufen: wie z.B. Herzinfarkt, Asthma bronchiale und auch die allgemeine Mortalität.

Paradebeispiel für den zum Teil aber noch ungeklärten Zusammenhang zwischen Klima und Krankheit ist der Föhn. Er beeinflußt den gesamten Organismus, vor allem auch die Psyche.

2 Literaturübersicht

Was ist Hydroxyprolin? Hydroxyprolin gehört zu den Pyrrolidincarbonsäuren und besitzt keine freie α -Aminogruppe. Es wird daher als Iminosäure bezeichnet.



In biochemischer Hinsicht ist das Faserprotein Kollagen dadurch ausgezeichnet, daß es zu etwa 10 - 16 % die beiden Aminosäuren Prolin und Hydroxyprolin enthält. 1 - 2 % dieser Aminosäuren kommen lediglich im Elastin des menschlichen und tierischen Organismus vor. In allen anderen Eiweißkörpern fehlen sie dagegen völlig (CZITBER, RAAB(5)).

Durch den relativ hohen Anteil und das fast ausschließliche Vorkommen im Kollagen ist der Stoffwechsel von Hydroxyprolin als Parameter für Synthese und Umsatz des Kollagen geeignet.

Eine weitere Tatsache ist, daß das Hydroxyprolin des Kollagens ausschließlich aus peptidgebundenem Prolin in Anwesenheit von Sauerstoff und Ascorbinsäure gebildet werden kann.

Das Kollagen des Knochens bildet als Matrix 90 - 95 % der organischen Knochenanteile und ist einem kontinuierlichen Turnover unterworfen. Bei intensivem Ab- und Aufbau des Knochenkollagens erfolgt unter physiologischen Bedingungen, insbesondere bis zum Abschluß der Wachstumsphase, eine gesteigerte Ausscheidung von Hydroxyprolin. Ab dem 20. Lebensjahr findet sich eine annähernd konstante Ausscheidung, wenn kollagenfreie Diät gegeben wird (siehe Abb.1, S.12).

Betrachtet man die in der Literatur angegebenen Werte für Totalhydroxyprolinexkretion in mg/24 h, so findet man eine breite Streuung der Angaben.

(Bezogen jeweils auf ein Normalkollektiv unterschiedlicher Anzahl von gesunden Erwachsenen)

Werte:	Literatur:	Anzahl der untersuchten Personen:
13,4 $\pm$ 0,9	MAUTALEN (34)	20
13,5 $\pm$ 5,4	REHPENNIG (49)	20
23,3 $\pm$ 1,8	MAUTALEN (35,36)	17,20
25,1	MITOMA (37)	634
27,3	LAITINEN (30), KREYSEL (29)	70
35,26 $\pm$ 12,54	PEREYRA (39)	6
36,7 $\pm$ 2,94	HADDAD (15)	15
46,3 $\pm$ 15,8	RUIZ-TORRES (51)	13
12,1 - 28,5	PAREKH (38)	35
15 - 62	PROCKOP (42)	15
10 - 70	SEYMOUR (53)	?
22 - 50	RAAB (47), QUENTON (46)	32

Es ist eventuell mit methodischen Unterschieden zu rechnen: Die verschiedenen Verfasser untersuchten unterschiedlich lang ihre Probanden. Einige Werte stützen sich auf einen einzigen Meßwert, andere auf mehrere Vergleichswerte. Nie wurden jedoch bisher Langzeitmessungen durchgeführt.

Außerdem dürften verschiedene analytische Verfahren zur Bestimmung der Hydroxyprolinurie angewendet worden sein.

Bei hoher Streuung der Angaben spricht dafür, daß die Grenzen der "normalen" Hydroxyprolinurie breiter liegen als bisher angenommen (RUIZ-TORRES (51)).

Es wurden zahlreiche Untersuchungen über den Zusammenhang des Hydroxyprolin mit einigen Krankheiten, vornehmlich Knochen- und Kollagenkrankheiten durchgeführt.

Erhöhte Hydroxyprolinausscheidung:

a) Physiologisch:

Wachstumsalter (ZIFF (59), EBERHAGEN (11))

Gravidität (EMMRICH (12), EBERHAGEN (11))

erhöhte Kollagenzufuhr (EBERHAGEN (11))

b) Pathologisch:

Knochenkrankheiten (HADDAD (15))

Bindegewebserkrankungen (DULL (10))

endokrine Krankheiten, insbesondere:

Hyperthyreoidismus (WEIMANN (58)

DABELS (6), ROMMEL (50), KEI-

SER (22), KIVIRIKKO (24),

EMMRICH (12))

Hyperparathyreoidismus (BA-

TES (2), JOHNSTON (19))

Akromegalie (EBERHAGEN (11))

Morbus Cushing (EBERHAGEN (11),

EMMRICH (12))

Hautkrankheiten

andere Krankheiten: Leberzirrhose (HESCH (17),

EMMRICH (12))

Verbrennungen

Morbus Hodgkin (EBERHAGEN (11))

gestörte Nierenfunktion

familiäre Hydroxyprolinämie

Verminderte Hydroxyprolinausscheidung:

Zwergwuchs (EBERHAGEN (11))

Hypothyreose (KREYSEL (29), DABELS (6), RUIZ-TORRES (51),

EBERHAGEN (11), LANGNESS (31),

EMMRICH (12))

Hypoparathyreoidismus (KEISER (22), EBERHAGEN (11))

Osteogenesis imperfecta (EBERHAGEN (11))

Medikamentöse Einflüsse

Gewisse Medikamente haben ebenfalls Einfluß auf die

Hydroxyprolinausscheidung (EBERHAGEN (11)).

Hypophysenvorderlappeninsuffizienz

Abakterielle Endokarditis

Maximale körperliche Belastung (DABELS (6), EMMRICH (12))

Der Zusammenhang zwischen Hydroxyprolinausscheidung und den physiologischen Veränderungen des menschlichen Organismus wird von EMMRICH (12) untersucht.

a) Konstanz der täglichen Hydroxyprolin-Menge:
(7 Tage) (n = 2) 10,98 - 12,96 mg/24h

b) Altersabhängigkeit:

Alter	n	Total-Hydroxyprolin	Freies Hydroxyprolin
0 - 20	27	16,13 $\pm$ 3,4	0,93 $\pm$ 0,35
21 - 60	60	11,76 $\pm$ 2,2	1,01 $\pm$ 0,2
61 - 85	26	9,26 $\pm$ 1,96	0,9 $\pm$ 0,3

Man sieht, daß die Gesamt-Hydroxyprolinausscheidung in Abhängigkeit vom Alter streut, erkennt aber auch, daß die Werte für die höheren Altersgruppen unter denen der jüngeren liegen.

Da die Ausscheidung von Hydroxyprolin im wesentlichen durch die Rate des Kollagenabbaues bestimmt wird, wurde von EMMRICH (12) der Einfluß starker körperlicher Belastung untersucht:

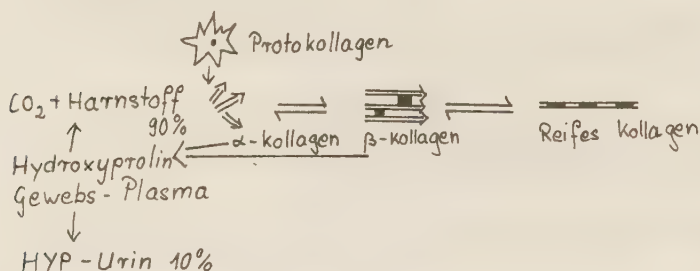
Tabelle Hydroxyprolinausscheidung/24h, vor und nach körperlicher Belastung (n = 2).

	Sammelurin ml	Gesamthydroxyprolin mg	freies Hydroxyprolin mg
1. Ruhewert	900	17,1	1,13
nach 8 km			
Belastung	800	12,4	1,10
2. Ruhewert	600	15,0	1,20
nach			
Belastung			
5 km	450	8,56	1,07
27 km	400	7,40	1,15
32 km	500	4,75	1,50

Es muß in unserem Rahmen also auch geprüft werden, ob bei den Versuchspersonen des Klimakammerversuches 3, die ja auch körperlicher Belastung unterworfen waren, die Hydroxyprolinausscheidung dadurch beeinflusst worden ist.

Die verminderte Ausscheidung des gebundenen Hydroxyprolins nach maximaler körperlicher Belastung ist nicht leicht zu deuten. Als Ursache hierfür könnte die starke Beanspruchung des Energiestoffwechsels in Betracht kommen, zumal eine Abhängigkeit der Harnvolumina zur Belastung zu erkennen ist. Vielleicht spielt eine prärenale Retention die Hauptrolle.

Die Skizze zeigt, wie man sich den Zusammenhang Hydroxyprolinexcretion - Kollagenumsatz vorstellt.



Da in dieser Arbeit die eventuellen Zusammenhänge von klimatischen (= exogenen) Faktoren auf die Hydroxyprolinausscheidung (= endogen) untersucht werden soll, zitiere ich KOPECKY (28), wo die Grundlagen für obige Abbildung erläutert sind.

"Im Inneren des Fibroblasten wird die Aminosäure Prolin in die Peptidketten des Protokollagens eingebaut, um während der Endreaktion bei der Entstehung des Kollagens zu Hydroxyprolin umgewandelt zu werden."

Die früheste Form des Kollagens (GOTTLIEB (14), HURYCH (18), JUVA (20), LUKENS (33), PETERKOF-SKY (40)), auch Alpha-Kollagen genannt, ist in neutralen Salzlösungen gut löslich; das Beta-Kollagen ist nicht mehr so gut löslich und das reife Kollagen ist unlöslich. Alle drei Formen gehen ineinander über. Aus dem Alpha-Kollagen wird das freie wie das peptidgebundene Hydroxyprolin freigesetzt. Das freie Hydroxyprolin ist in den Geweben und Körperflüssigkeiten als Baustoff (PETERKOF-SKY (41), PROCKOP (43), STETTEN (55), (56)) nicht verwendbar und wird zu Harnstoff und CO_2 abgebaut. In den Harn geht fast ausschließlich

das peptidisch gebundene Hydroxyprolin über, während das freie einer Rückresorption im renalen Tubulus unterliegt.

Einflüsse der Hyper-und Hypothyreose

Da tierexperimentell bewiesen ist, daß Schilddrüsenhormone den Kollagenstoffwechsel beeinflussen, lag der Gedanke nahe, die Hydroxyprolinexcretion in der Schilddrüsendiagnostik zu verwenden. DULL und HENNE-MANN (9) haben als erste bei Hyperthyreosen eine erhöhte, bei Hypothyreosen eine verminderte Hydroxyprolinausscheidung gefunden. BENOIT (3) und andere (CHESTER (4), KIVIRIKKO (25), (26), (27), LITTLE (32)) haben dieses Ergebnis bestätigt.

Untersuchungen über Zusammenhänge der Hydroxyprolinausscheidung mit rheumatischem Geschehen und anti-rheumatischer Behandlung haben RAAB (47) und WEIMANN (58) durchgeführt, mit dem Ergebnis, daß die Hydroxyprolinwerte der Patienten ($n = 60$) im Normalbereich oder wenig darüber lagen.

Laut SMITH (54) soll der scheinbar große Einfluß einer Abmagerungskur auf den Kollagenstoffwechsel nur eine geringe Wirkung auf den Hydroxyprolinstoffwechsel haben.

RADOM (48) untersuchte 18 gesunde, 15 + 7 Patienten, die an "multiple myeloma" und/oder Brust-CA mit Knochenmetastasen erkrankt waren. Er fand, daß es einen Circadian-Rhythmus gibt. Siehe Kurve Abb.2.

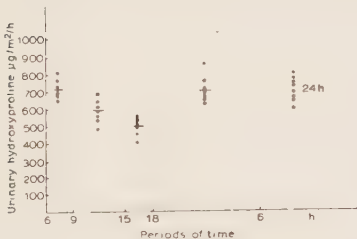


Abb. 2

Fig. 1. Total urinary hydroxyproline excretion during 24 h in one healthy subject for 7 successive days. OHP: total hydroxyproline = free hydroxyproline + peptidically bound hydroxyproline.

(aus RADOM (48))

MAUTALEN (35), (36) bestimmte alle vier Stunden bei 17 Patienten die Hydroxyprolinmenge: Er fand, daß die Spitze der täglichen Hydroxyprolinausscheidung zwischen Mitternacht⁰⁰ und 8⁰⁰ früh ist, während das Minimum zwischen 12⁰⁰ mittags und 20⁰⁰ zu finden ist.

Es wurde bereits erwähnt, daß es in der Literatur keine Anhaltspunkte über Zusammenhänge der Hydroxyprolinexcretion und klimatischen Faktoren gibt. Es soll jedoch auf die Arbeiten verwiesen werden, in denen Einflüsse der Körper- und der Außentemperatur auf den Menschen abgehandelt werden (ASCHOFF (1)).

3 Fragestellung

Im Institut für Medizinische Balneologie und Klimatologie der Universität München wurden beim Klimakammerversuch 3 (KK3) die verschiedensten physiologischen Reaktionen von drei jungen gesunden Studenten auf ein künstlich geschaffenes Klima untersucht. Während im KK 2 nur die Luftfeuchtigkeit verändert wurde, alle anderen Parameter (Luftdruck, Temperatur, Energieeinstrahlung, etc.) aber konstant blieben, untersuchte man im vorliegenden KK 3 sowohl Lufttemperatur- als auch Luftfeuchtigkeitsänderungen.

Die drei Versuchspersonen (VP 1, VP 2, und VP 3) hielten sich zunächst in einem konstanten Klima auf. (Bioklimaraum). Dann lösten kurzfristige Klimareize in Form von einstündigen, plötzlich auftretenden Temperatur- und Feuchtigkeitsänderungen dieses konstante Klima ab. Dies entspricht einem häufig auftretenden Tagesablauf.

Nach Abschluß des Klimakammerversuchs wurden unter anderem auch Bestimmungen der im Harn vorkommenden Stoffe (Elektrolyte, Aminosäuren) vorgenommen. In dieser Arbeit handelt es sich um die Konzentration und Menge des im Urin ausgeschiedenen Hydroxyprolins.

Die Frage lautet vor allem:

"Haben kurzfristige Änderungen von Temperatur und Feuchte überhaupt einen meßbaren Einfluß auf den Organismus?"

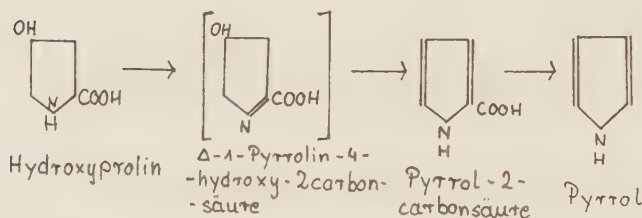
Überdies erwartet man allgemeine Informationen über Streubreiten, Tagesrhythmus, Störeinflüsse im Längsschnitt und methodische Besonderheiten.

4 Material und Methoden

41 Methodik der automatisierten Hydroxyprolinbestimmung im Urin

Hydroxyprolin wird einerseits nach speziellen Methoden der auf der Reaktion mit Ninhydrin oder 1,2-Naphthochinonsulfonsäure beruhenden allgemeinen Methoden zur Aminosäurebestimmung und andererseits aufgrund der Farbreaktion seines Abbauproduktes Pyrrol mit Isatin oder p-Dimethylaminobenzaldehyd (p-Dab) bestimmt (siehe KAKAC (21)).

Für die Verwendung eines Autoanalyzers wird die Verwendung einer Methode mit p-DAB empfohlen. Das Prinzip beruht auf einer Dekarboxylierung und Wasserabspaltung unter gleichzeitiger Oxidation durch Chloramin T. Der entstehende Pyrrolkörper wird photometrisch bestimmt.



411 Methodik in der Literatur

Wie aus den verschiedenen Literaturstellen hervorgeht, muß vor allem die Oxidation sorgfältig studiert werden (DREUX (7), PROCKOP und UDENFRIED (42)). das Hydroxyprolin, empfindlicher als das Pyrrol, soll allein oxidiert werden. Hierfür ist das gut dosierbare Chloramin T zu verwenden. Bei DREUX und LEYMARIE (8) wird Wasserstoffperoxid und die Oxidation in Gegenwart von Alanin vorgeschlagen (siehe auch PROCKOP und UDENFRIED (42)). Die Farbreaktion findet zwischen der Pyrrolcarboxyl-2-Säure und dem p-DAB im sauren Milieu (ph 6) und in der Hitze statt (60 bzw. 75°C).

Laut PAREKH (38) ist die Farbintensität eine Stunde lang stabil. Die Absorption kann bei 558 nm (PAREKH (38)) und 570 nm gemessen werden. von verschiedenen Autoren (KOPCKY (28), KAKAC (21)) wird die Bedeutung der Äthanolkonzentration für die p-DAB-Lösung unterstrichen. KAKAC (21) empfiehlt die Verwendung von Propanol mit 45,5 Vol.-%, um hiermit die Dielektrizitätskonstante zu verringern.

412 Angewandte Methode:

Es wurde die Methode nach DREUX und LEYMARIE (8) verwendet. Sie wurde auf ihre Zuverlässigkeit überprüft und etwas verändert. Wie aus dem Fließdiagramm (vgl. S.13) hervorgeht, werden bestimmte Mengen pro Zeiteinheit einer Probe mit dem Oxidationsmittel Chloramin T gemischt. Die dazukommende Luft dient der Segmentierung einzelner Proben, damit sich diese nicht untereinander vermischen. Anschließend kommt als Reduktionsmittel das Natriumsulfit dazu. DREUX (8) empfahl früher Natriumbisulfit, das aber nicht immer zum Erfolg führte. Um die Reaktion weiterzuführen, muß ein Heizbad zwischengeschaltet werden, nach DREUX bei 60°C. Eigene Versuche zeigten, daß eine Erhöhung der Wasserbadtemperatur auf 75°C die Farbintensität steigerte (vgl. Abb.3, S.12). Anschließend wird das Reaktionsgemisch abgekühlt. In einem Colorimeter wird bei 570 nm die Absorption gemessen. Das Ergebnis wird von einem Schreiber auf lineares Papier übertragen.

Das Fließdiagramm zeigt sowohl den Verlauf und die Reihenfolge der Reaktionen, als auch die relativen Mengen pro Zeiteinheit, erkennbar an den Querschnitten der Pumpenschläuche. Die absoluten Mengen können durch die Geschwindigkeit der Pumpe geändert werden. Bei den einzelnen im folgenden aufgezählten Reagentien hängt der Erfolg vor allem vom p-DAB ab. Es zersetzt sich mit der Zeit zu farbigen Produkten. Eigene Versuche zeigten, daß seine Reinheit von ausschlaggebender Bedeutung ist. Die Konzentration von p-DAB im Reaktionsgemisch beträgt 5%. Die Zusammensetzung der p-DAB-Lösung wurde nach anfänglichen Mißerfolgen mit der ursprünglichen Zusammensetzung verändert (siehe 413).

mgHYP/24h

HYDROXYPROLIN-AUSSCHIEDUNG IM HARN
BEI VERSCHIEDENEN ALTERSSTUFEN

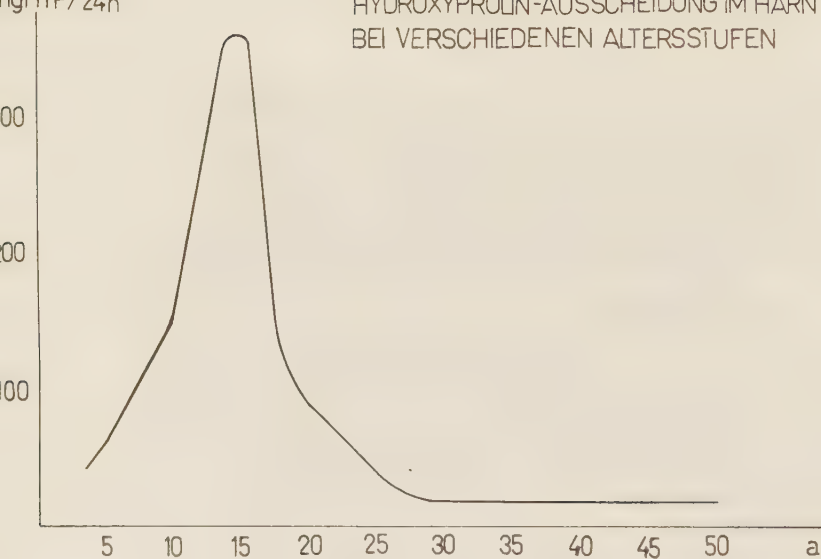


Abb. 1

ABHÄNGIGKEIT DER FARBINTENSITÄT
VON DER TEMPERATUR

KT

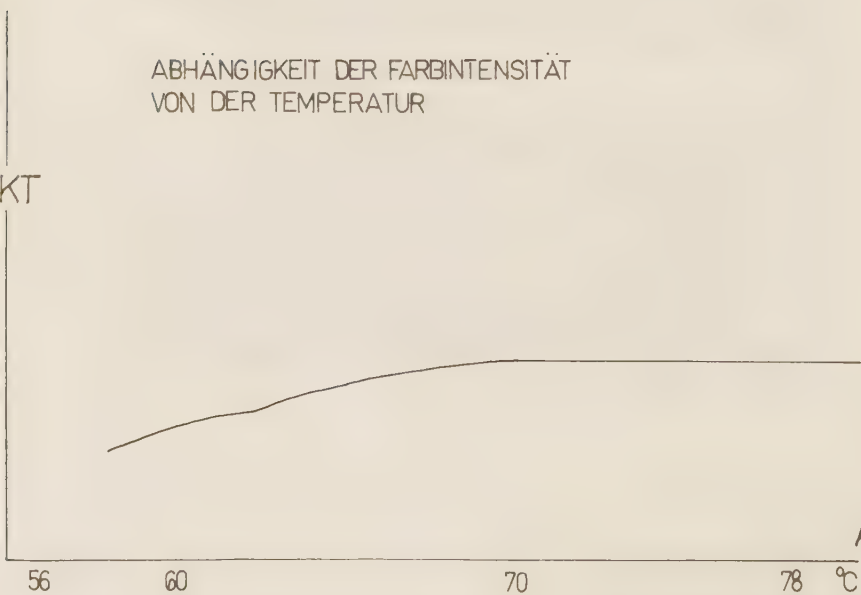
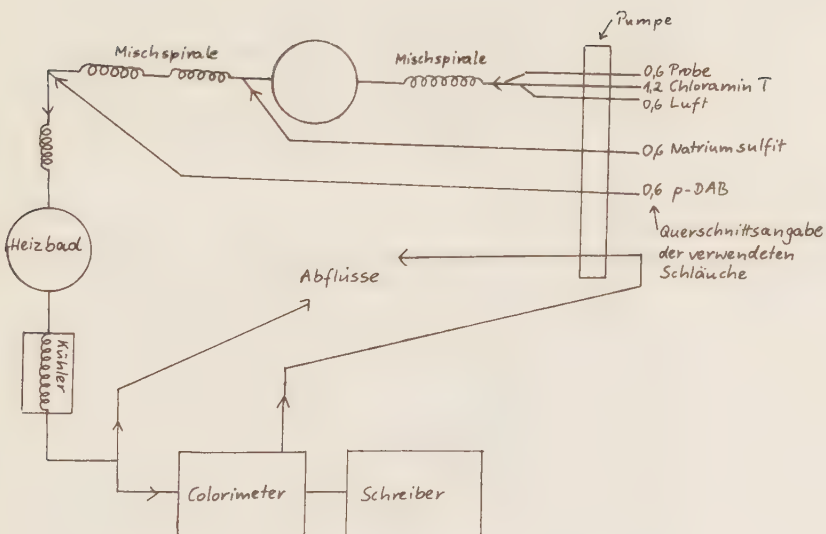


Abb. 3

Fließdiagramm



413 Folgende Reagentien wurden verwendet:

Chloramin T : 1,41 g in 80 ml H₂O
140 ml Äthylenglycolmonomethyläther
200 ml Puffer pH 6

Puffer pH 6 : Zitronensäure : 50 g
Essigsäure : 12 ml
NaOH : 34 g
Na-Acetat : 120 g
Aqua dest. ad : 1000 ml

Na-Sulfit.7 H₂O : 6 g auf 1000 ml

p-Dimethylaminobenzaldehyd (p-DAB)

p-DAB : 5 g
HCl : 50 ml
Äthanol : 50 ml
(Ursprüngliche Zusammensetzung s.o.)
p-DAB : 5 g
H₂SO₄ : 30 ml
Äthanol : 100 ml

42 Die Hydrolyse

Die Ausscheidung von Hydroxyprolin im Harn erfolgt zu mehr als 95 % in Form von Oligopeptiden (Di- und Tripeptide), wobei bereits 15 hydroxyprolinhaltige Peptide im Harn identifiziert werden konnten (CZITTOBER (5)). Nur 1 - 3 % des Hydroxyprolins im Harn liegen als freie Aminosäuren vor. Um das gebundene Hydroxyprolin mitbestimmen zu können, muß der eigentlichen Reaktion eine Hydrolyse vorausgehen.

421 Angaben in der Literatur:

Im allgemeinen wird die Verwendung der sauren Hydrolyse empfohlen (DREUX (7), (8), KREYSEL (29)). Unterschiedliche Angaben findet man über die nachfolgende Behandlung. Während DREUX lediglich ein anschließendes Filtrieren empfiehlt, messen andere Autoren dem Einsatz von Zentrifugen (SEYMOUR (53)) und Ionenaustauschersäulen (PAREKH (38)) großen Wert bei. Es werden auch verschiedene Lösungsmittel angegeben, die unerwünschte Farb- oder Oxidationsprodukte entfernen. Es wird gleichzeitig angegeben, daß Harnstoff, L-Tryptophan, L-Histidin, Hydroxyindol und Indoxylsulfat selbst in unphysiologischen Mengen kaum nennenswerte Änderungen der Hydroxyprolin-Spezifität verursachen.

422 Eigenes Vorgehen

Man mischt gleiche Teile filtrierten Urins mit 6-n-HCl, verschließt das Gemisch unter Stickstoffvakuum in einer Ampulle, gibt die Ampulle für 3 Stunden in den Wärmeschrank bei 120°C. Danach filtriert man erneut und neutralisiert das Hydrolisat mit NaOH unter Phenolphthaleinkontrolle.

Meine Versuche ergaben, daß eine 12-stündige Hydrolyse eine höhere Hydroxyprolinausbeute ergab als die empfohlene dreistündige. (SEYMOUR (53)) Dagegen brachte eine Ausdehnung auf 24 Stunden keine Verbesserung. Laut PAREKH (38) genügen auch 2 Stunden. Wichtig ist, daß die HCl-Konzentration im gesamten Reaktionsgemisch 2-6 N beträgt.

Um sicherzugehen, ob die Hydrolyse vollständig war, wird folgendes Verfahren angeraten: (Verwendung des "internen Standards")

Man fügt Hydroxyprolin zu:

1. reinem Urin, um zu verifizieren, daß das Hydroxyprolin in diesem Milieu vollständig erfaßt wird.
2. hydrolisiertem Urin
3. Urin vor der Hydrolyse, um festzustellen, ob die Erhitzung mit HCl keinen Verlust bedingt.

Für die Aussagekraft der angewandten Methode wurde eine Eichkurve erstellt. Als Stammlösung diente 100 mg Hydroxyprolin auf 1000 ml H₂O und etwas HCl.

ABNAHME DER HYP-MENGE/ ZEITEINHEIT
10 mg HYP/l

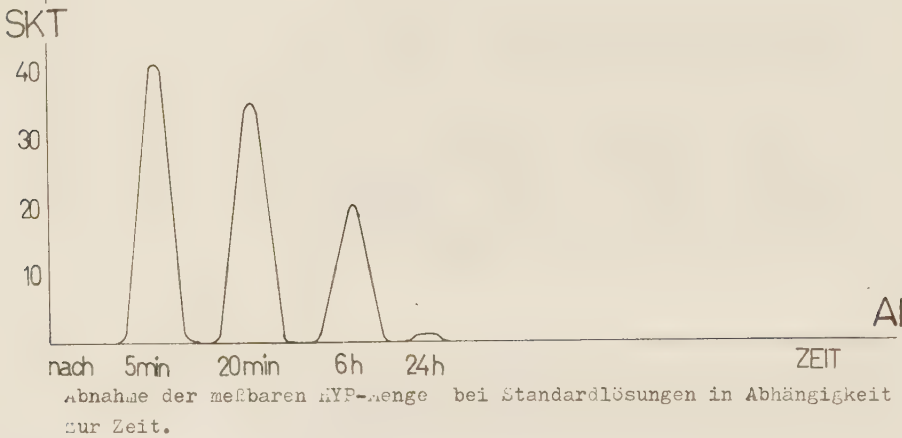
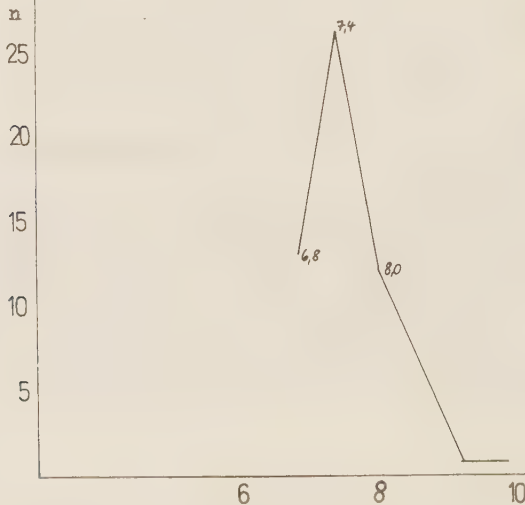


Abb. 4

HÄUFIGKEIT



Abb

REPRODUZIERBARKEIT (STANDARDLÖSUNG 10mgHYP/lH₂O)

Davon wurden Lösungen zu 0,5 2,5 10 15 und 20 ml Hydroxyprolin/l H_2O hergestellt. Die Eichkurve ist eine Gerade. Sie gehorcht dem Lambert-Beerschen Gesetz (vgl. Abb. 7 aus DREUX (8)) zwischen 0 - 30 mg Hydroxyprolin/l.

Linearität und Reproduzierbarkeit wurden ebenso geprüft (vgl. Abb. 5 und 7).

Haltbarkeit der Standardlösung

Es muß betont werden, daß nur die oben angegebene Stammlösung gekühlt über längere Zeit haltbar ist. Die davon hergestellten Verdünnungen dagegen sind nur sehr beschränkt haltbar. Ich habe dabei geprüft, ob pH (3,6), Zimmertemperatur oder Temperaturen unter Null diese Haltbarkeit beeinflussen.

Ergebnis: Weder Unterschiede im pH der Verdünnung noch Temperaturunterschiede in der Aufbewahrung ließen die Verdünnungen länger als 5 min haltbar erscheinen. Selbst bei eingefrorenen Proben sank der Anteil (Abb. 4) an meßbarem Hydroxyprolin. Zwar sank bei den eingefrorenen Proben anfänglich der Anteil des Hydroxyprolin wie bei den übrigen. Es blieb jedoch immer ein gewisser Rest an meßbarem Hydroxyprolin übrig, während bei den übrigen Proben nach einigen Stunden überhaupt kein Hydroxyprolin mehr zu messen war.

Bezüglich der Urinproben könnte man an Reaktionen denken, die eine Umsetzung des vorhandenen Hydroxyprolin oder eine "Maskierung" desselben hervorrufen. Vielleicht könnte hier die Aufbewahrung unter Toluol Abhilfe schaffen.

Wie oben erwähnt, war die Hydrolyse sicherlich nicht vollständig. Zwar blieb sie reproduzierbar. Jedoch bringt der einfache Vergleich zwischen den Extinktionswerten des Standards und denen des hydrolysierten Urins keine absoluten Mengenangaben. Man vergleiche auch die Angaben von RUIZ-TORRES (51): "Das gebundene Hydroxyprolin stellen wir nach Hydrolyse in 32 %-iger HCl (3 h bei $180^{\circ}C + 2,2 \text{ Atü}$) fest. Vor der Bestimmung wurde durch entsprechende Verdünnung der Säuregrad der Ursprungslösung herabgesetzt, da bei höheren Werten als 0,7 n HCl die Farbintensität des Kondensationsproduktes bemerkenswert abgeschwächt wird."

43 Der Versuchsablauf des KK 3 (nach HEBEL)16))

Der Klimakammerversuch:

1.1. Charakteristik:

Drei Versuchspersonen befinden sich 30 Tage in einer Klimakammer. Sie werden außerdem bestimmten dosierbaren Reizen klimatischer und psychologischer Art ausgesetzt. Der Tagesablauf ist weitgehend standardisiert, s. Kap. 43, 1.5.

1.2. Versuchspersonen:

Als Versuchspersonen stellten sich drei Medizinstudenten zur Verfügung. VP 2 und VP 3 waren während der gesamten Versuchsdauer gesund, während VP 1 bereits ab Tag 2 für 14 Tage lang Zahnschmerzen hatte und nach einer Antibiotika-Behandlung ab Tag 14 an Diarrhoe litt.

1.3. Versuchszeit:

1. Versuchstag: 8.3.73 = Tag 2 der Auswertung
Letzter " : 5.4.73 = Tag 30 der Auswertung

Gesamtdauer : 28,5 Tage

Tag 1 diente technischen Vorbereitungen und zur Eingewöhnung.

1.4. Versuchsort:

Die Untersuchungen wurden im Bioklimaraum des Institutes für medizinische Balneologie und Klimatologie der Universität München in Großhadern durchgeführt.

1.4.1. Bioklimaraum:

Funktion: Aufenthaltsort (= Wohnraum der VP's)

Größe: ca. 15 m² Grundfläche, 3 m lichte Höhe

Beleuchtung: tagsüber: Xenonhochdrucklampen, dem
Sonnenspektrum ähnlich

abends : Leuchtstofflampen

Fenster : keine

Der Raum ist zum Ausschluß elektromagnetischer Einflüsse als Faraday'scher Käfig gebaut. Es werden Strahlungen mit Wellenlängen von 30 - 1000 m abgeschirmt. Der Raum ist klimatisiert und erhält über eine Luftumwälzanlage etwa 30 % Frischluftzusatz. Es herrschte ständig eine Temperatur von 21°C und eine Luftfeuchtigkeit von 60 % mit geringen tagesperiodischen Schwankungen von $\pm 1^{\circ}\text{C}$ bzw. $\pm 5\%$.

1.4.2. Versuchsbad:

Funktion: Ort der Anwendung der Klimareize; Kontrollraum mit weiteren Meßgeräten und Aufenthaltsraum für die Versuchsleiter.

Die Temperatur- und Feuchtigkeitsreize im Versuchsbad schwankten zwischen $14,6^{\circ}\text{C}$ und $29,2^{\circ}\text{C}$ bzw. zwischen 63 % und 88 %. Ein Klimareiz war durch eine bestimmte Feuchtigkeits-Temperaturkombination gekennzeichnet.

1.5. Versuchsablauf:

Nur morgens (8^{30}) und abends (18^{30}) verließen die VP's ihren Bioklimaraum für eine Stunde, um im Versuchsbad einem "Klimareiz" ausgesetzt zu werden. Eventuelle Veränderungen im Organismus, die auf diesen Klimareiz zurückzuführen wären, sollten durch Messungen physiologischer und psychologischer Parameter festgestellt werden. (vgl. 1.6.)

Tagesablauf:

6.45 Wecken
7.00 1. Versuchsdurchgang
8.30 Versuchsbad (währenddessen Duschen und Frühstück)
9.30 zurück in Bioklimaraum
2. Versuchsdurchgang
11.30 Mittagessen
12.30 3. Versuchsdurchgang
14.00 Dessert
14.30 4. Versuchsdurchgang
16.00 Teepause
17.00 5. Versuchsdurchgang
18.30 Versuchsbad (Abendessen)
19.30 Bioklimaraum, Freizeit
ab 22.30 Bettruhe

Im Bioklimaraum herrschte ständig eine Temperatur von ca. 21°C und eine relative Luftfeuchtigkeit von 60 % mit geringen tagesperiodischen Schwankungen von $\pm 1^{\circ}\text{C}$ bzw. $\pm 5\%$ (= konstantem Klima).

Meßtermine für Urin:

8.30 Urin 1 (T 1) beeinflusst vom Abendreiz des Vortages
11.30 Urin 2 (T 2) beeinflusst vom Morgenreiz desselben Tages
14.30 Urin 4 (T 4) wird verworfen wegen der Einflüsse des Mittagessens
18.30 Urin 3 (T 3) von keinem Reiz beeinflusst.

1.6. Der Versuchsdurchgang

Dauer: durchschnittlich 70 - 75 Minuten

Messungen und Tests:

Temperatur an verschiedenen Körperstellen
Wiedererwärmung nach Abkühlung, Elektrodermatome-
tri, Blutdruck Standard eines Beins, Schellong-
Test, Atemgase, Lidschlagfrequenz,
Flimmerverschmelzungsfrequenz,
Lieblingfarbe wählen, Grünfarbe einstellen,
Ergometrie (6 min 175 Watt), Zieltest
nachts : Messung der Rektaltemperatur.

1.7. Behandlung der Urinproben:

Die Urinproben bestanden aus dem Sammelurin seit dem letzte Abgabetermin. Die Blase sollte zum Meßtermin möglichst vollständig entleert werden. Der Urin von einer Mindestmenge von ca. 150 ml wurde im Standzylinder gesammelt, dann in verschiedenen Gefäßen abgefüllt und in Plastikampullen eingefroren.

1.8. Speisen

Die Essensauswahl wurde sowohl qualitativ als auch quantitativ kaum eingeschränkt.

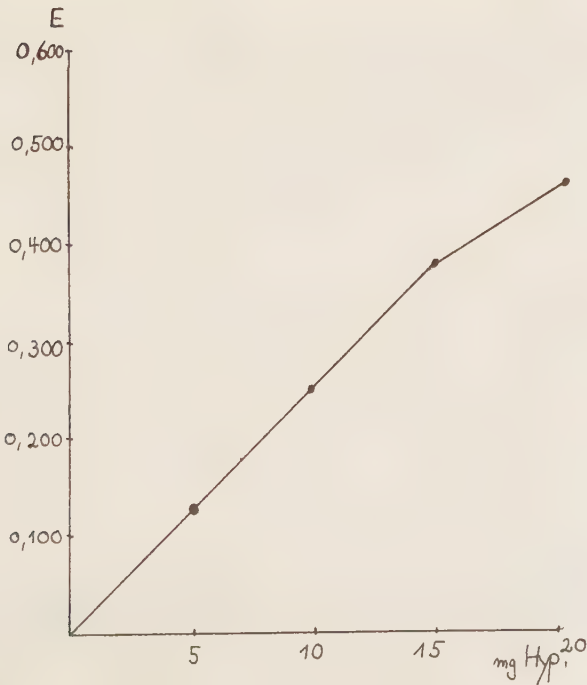
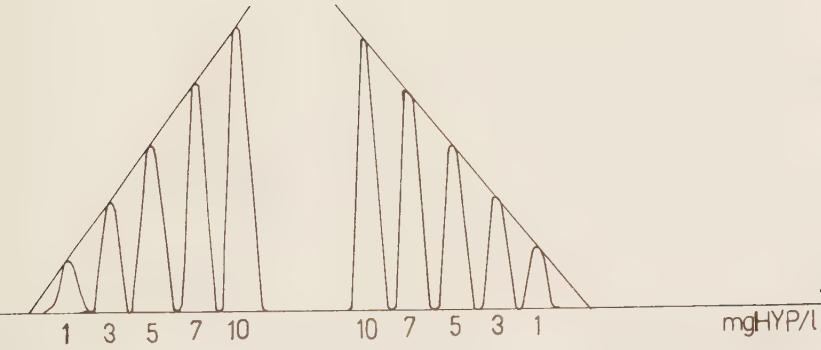
Im Laufe des Versuchs ergab sich, daß die VP's mit Ausnahme des Mittagessens eine immer gleiche oder ähnliche Zusammenstellung der übrigen Mahlzeiten wählten.

1.9. Getränke

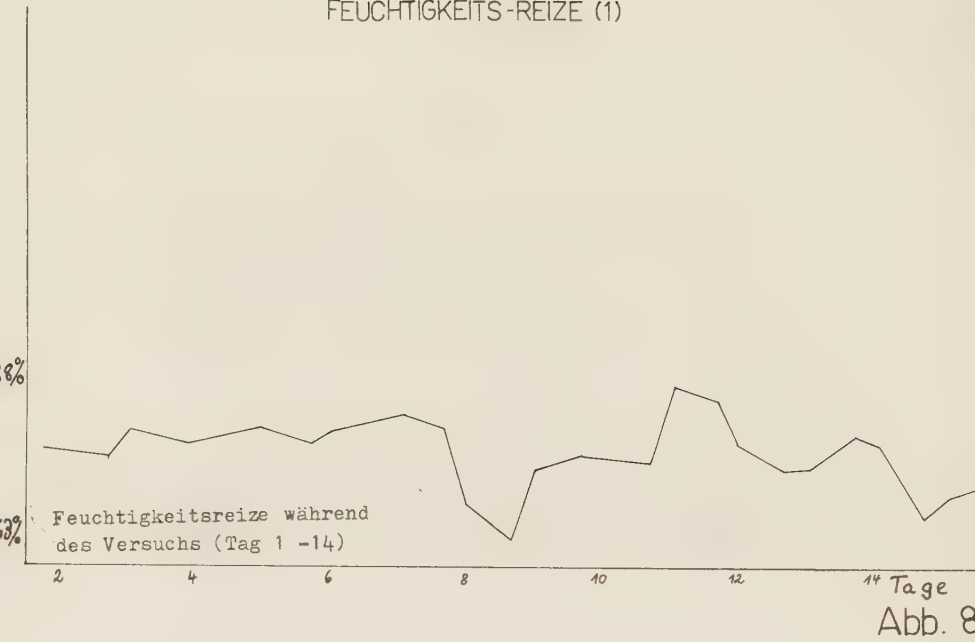
Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, blieb die in den Meßintervallen aufgenommene Flüssigkeitsmenge immer annähernd konstant (kein Alkoholgenuß).

Frühstück	: bis 10.30	1 Glas Orangensaft (ca. 250 ml) 3 Tassen Tee/Kaffee (ca. 150 ml) (wobei Vp 1 nur 2 Tassen)
Mittagessen:	bis 13.30	2 Gläser Limo oder Saft
Nachmittag	: bis 17.30	2 Tassen Tee
Abendessen	: ab 18.00	3 Gläser Limo oder Saft.

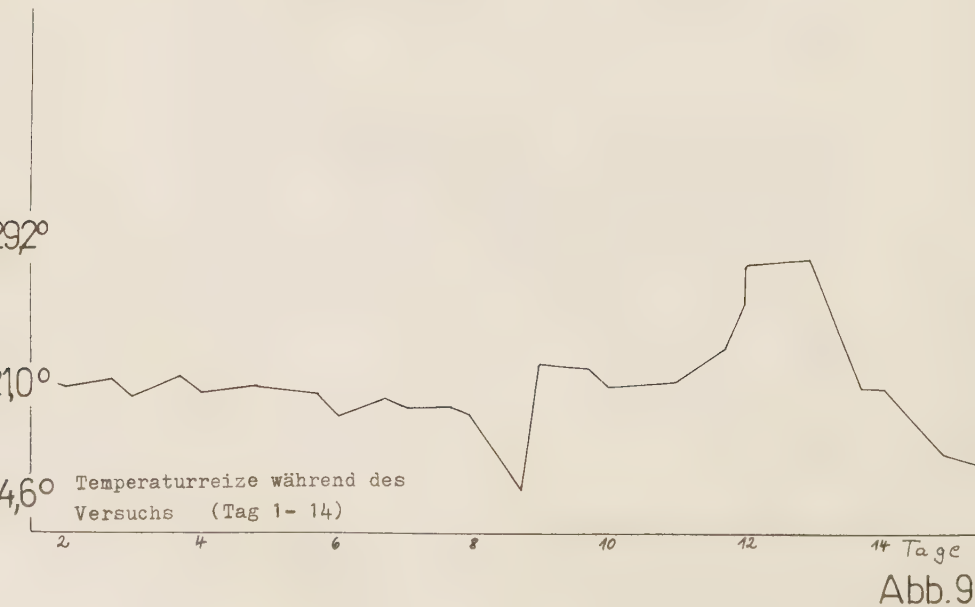
EICHKURVE



FEUCHTIGKEITS-REIZE (1)



TEMPERATUR-REIZE (1)



FEUCHTIGKEITS-REIZE (2)

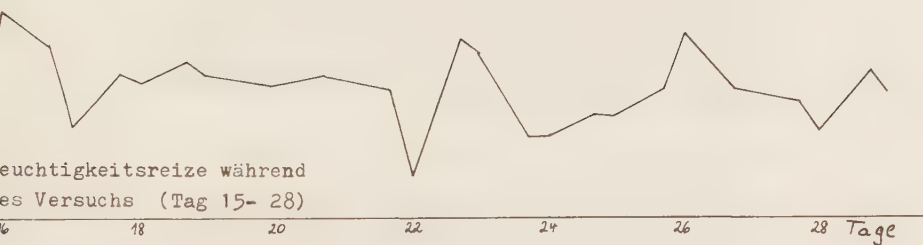


Abb.10

TEMPERATUR -REIZE (2)

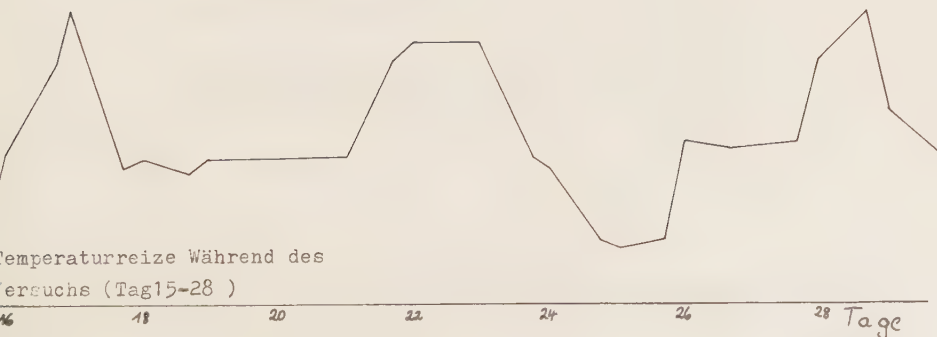


Abb.11

5 A U S W E R T U N G und E R G E B N I S S E

50 Allgemeine Vorbemerkungen

Der Verlauf der Temperatur- und Luftfeuchtigkeitskurven läßt es für nötig erscheinen, diese unterschiedlichen "Reize" als völlig isoliert voneinander zu betrachten. Deshalb werden beide Parameter getrennt auf die Urinkurven angewendet. Die Problematik dieser nicht eindeutigen Zuordnung wird in der Diskussion näher erläutert. Schließlich ist noch nicht bekannt, wie lange - wenn überhaupt - ein klimatischer Reiz die Hydroxyprolinexcretion beeinflussen kann.

Für einen Teil der folgenden Auswertung werden folgende Voraussetzungen postuliert:

1. Ein entsprechender Klimareiz wirkt sich nur auf die Werte des darauffolgenden Meßintervalls aus; auf keinen Fall also auf die eines späteren. Problematisch ist dabei die unterschiedliche Länge der Sammelintervalle:

U 1 : 14 Stunden,

U 2 : 3 Stunden,

U 3 : 4 Stunden,

U 4 : 3 Stunden wurde verworfen.

Folglich liegt bei U 1 die Reizapplikation viel länger zurück als bei U 2. U 3 dagegen beinhaltet nach obiger Voraussetzung überhaupt keinen Reiz.(?)

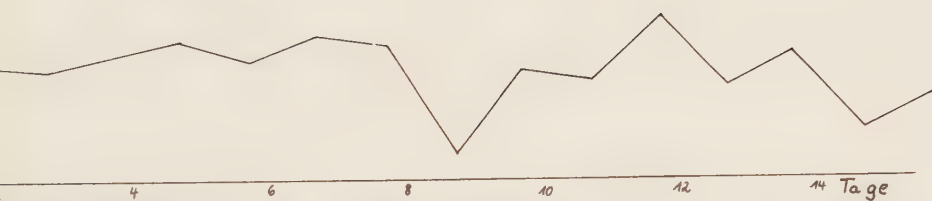
2. Auf Grund des Verlaufes der Temperatur- und Luftfeuchtigkeitskurven erscheint es notwendig, diese Reize als völlig isoliert voneinander zu betrachten; das heißt, beide Parameter getrennt auf eine Urinkurve anzuwenden.

3. Weiterhin muß eine zeitliche Anpassung von Reiz- und Urinkurven erfolgen. Bei den Abbildungen 12 - 19 sind daher die Reizkurven zeitlich so verschoben, daß sie zum dazugehörigen Urinmeßwert abgelesen werden können.

4. Die Zahl der Werte ist für statistische Prüfungen zu gering! (3 Versuchspersonen/28 Tage) Die angegebenen Prozentzahlen dienen daher nur dem Vergleich.

FEUCHTIGKEITS-REIZE (1)

URIN 1



Urinabgabetermin 1 bezogene Feuchtigkeitsreize

Abb.12

FEUCHTIGKEITS-REIZE (2)

URIN 1

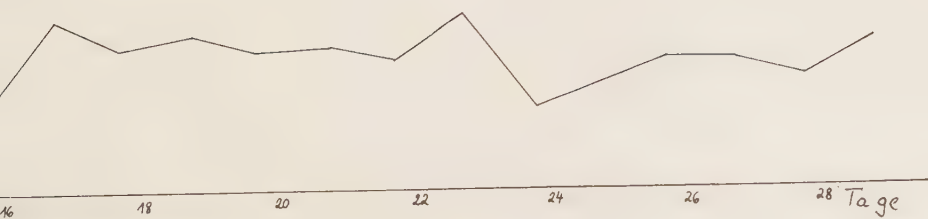
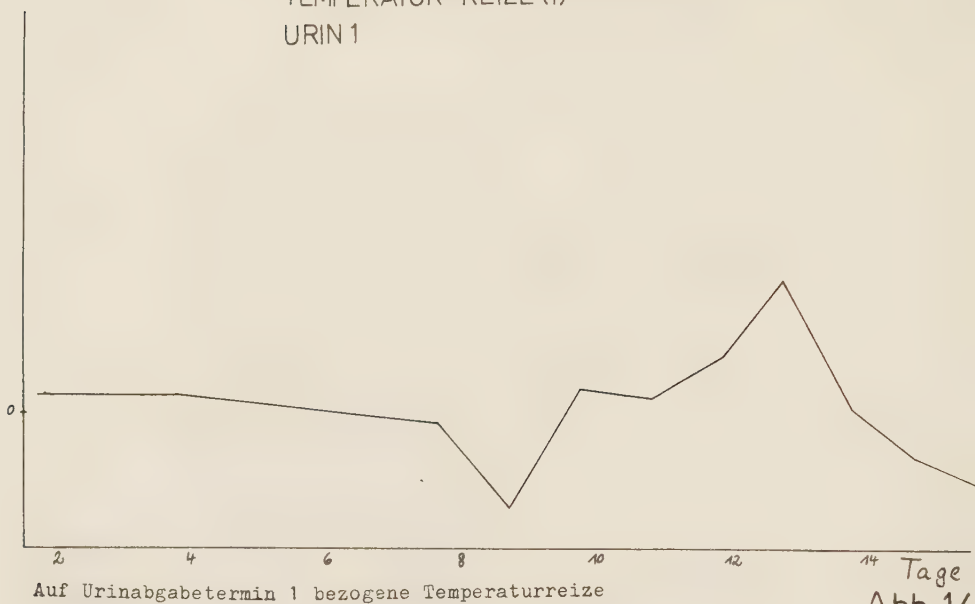


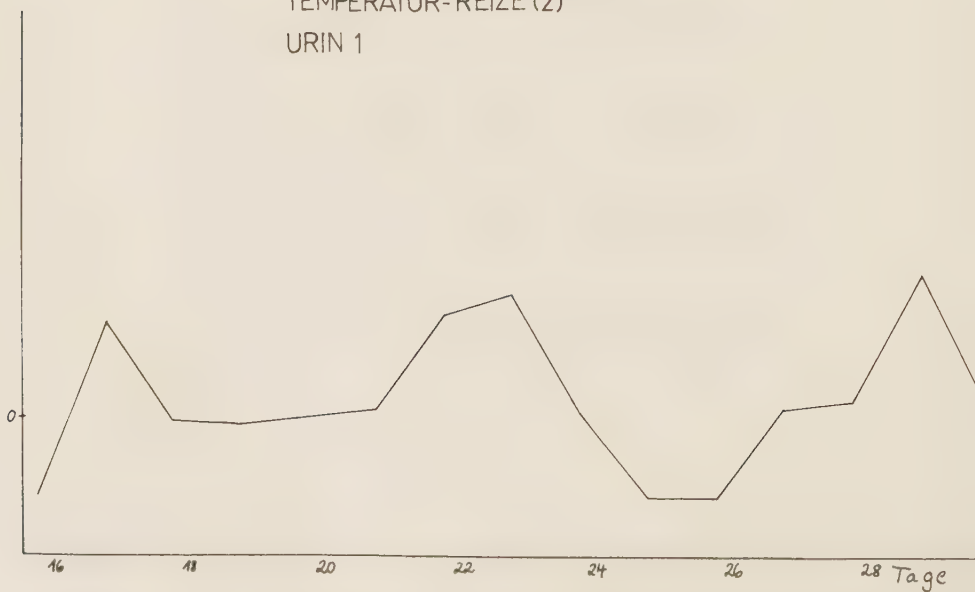
Abb.13

TEMPERATUR-REIZE (1)
URIN 1



Tage
Abb.14

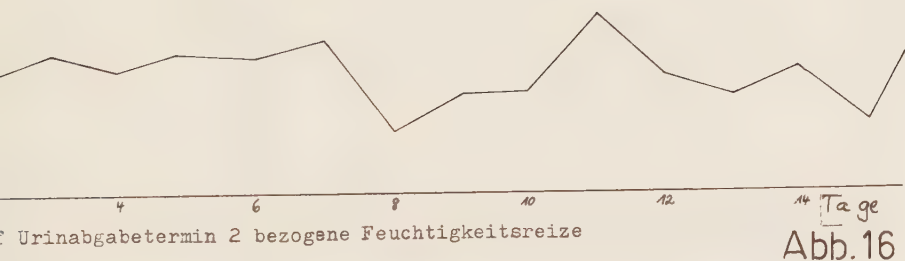
TEMPERATUR-REIZE (2)
URIN 1



28 Tage
Abb.15

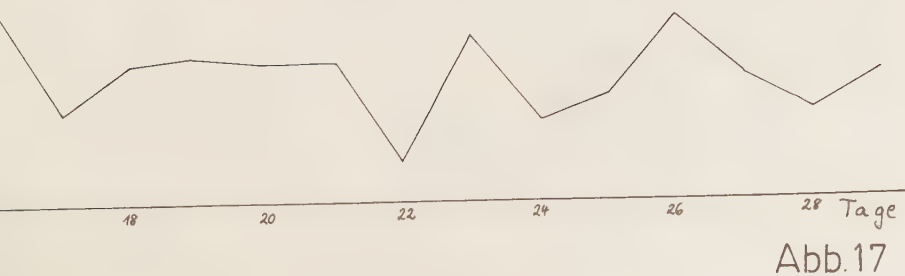
FEUCHTIGKEITS-REIZE (1)

URIN 2



FEUCHTIGKEITS-REIZE (2)

URIN 2



TEMPERATUR-REIZE (1)
URIN 2

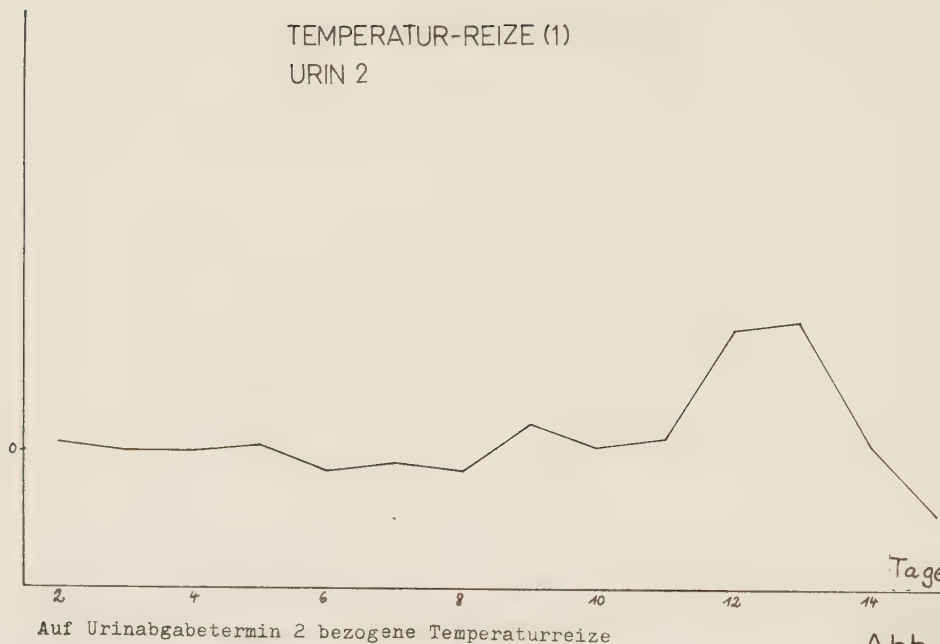


Abb.

TEMPERATUR-REIZE (2)
URIN 2

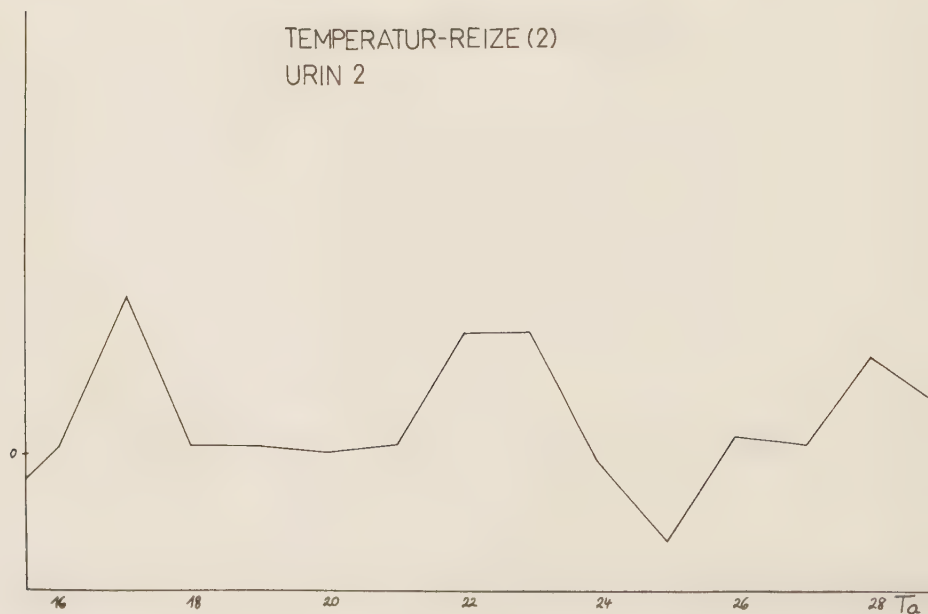
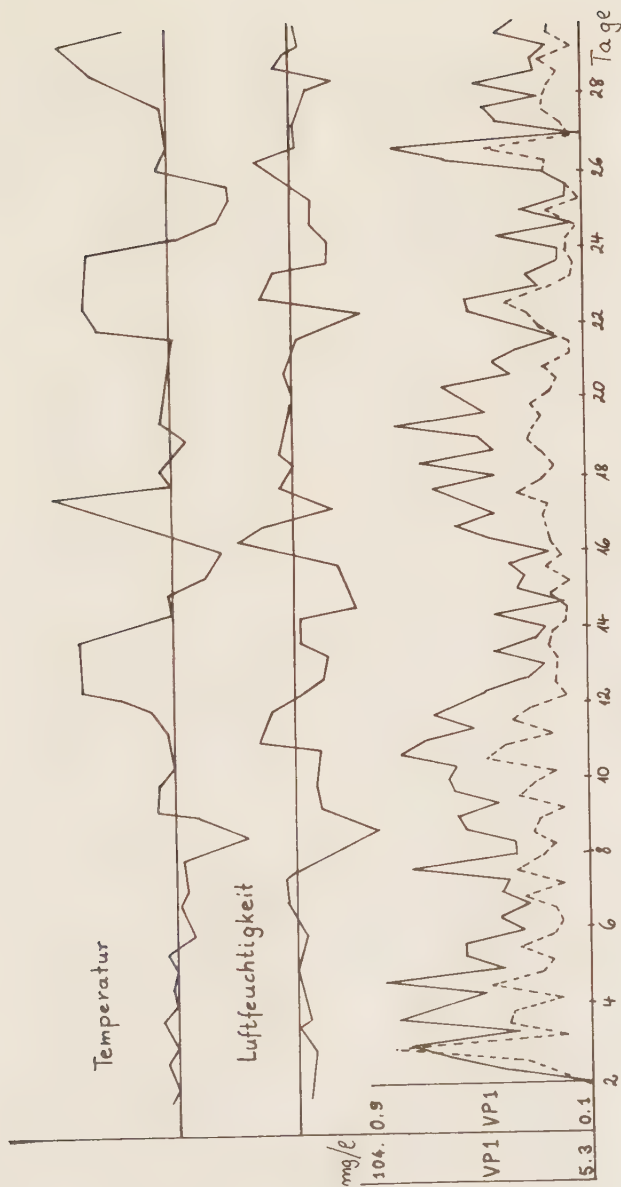
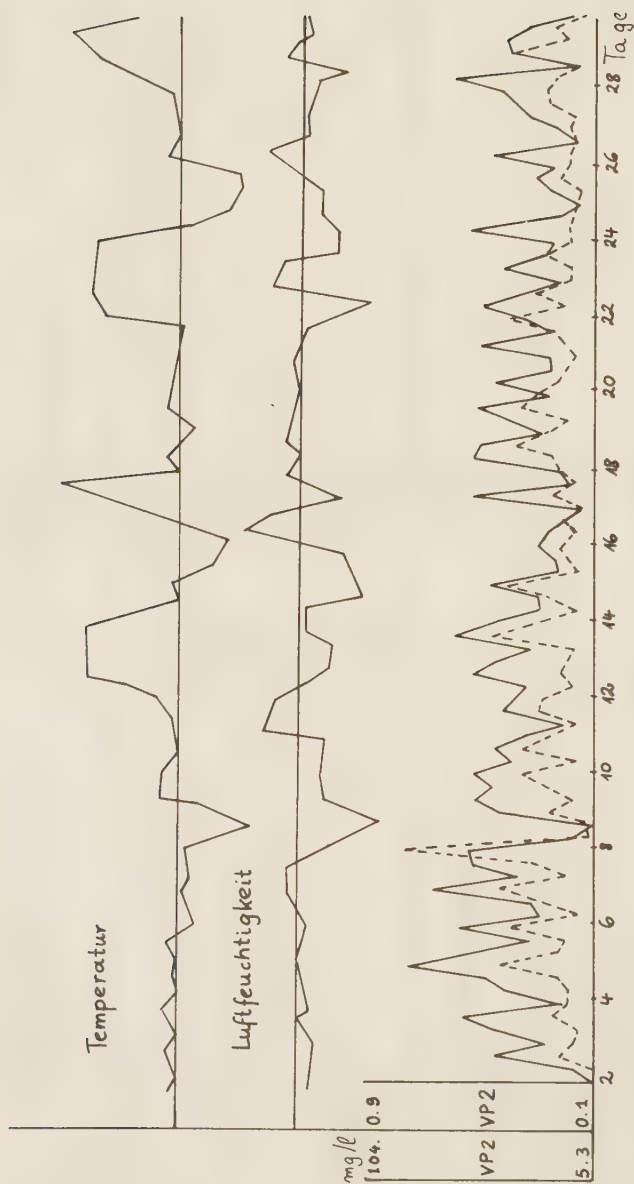


Abb.



Hydroxyprolin-Menge (----) während des Klimakammerversuchs 3
 Hydroxyprolinkonzentration (—) - Versuchsperson 1 -

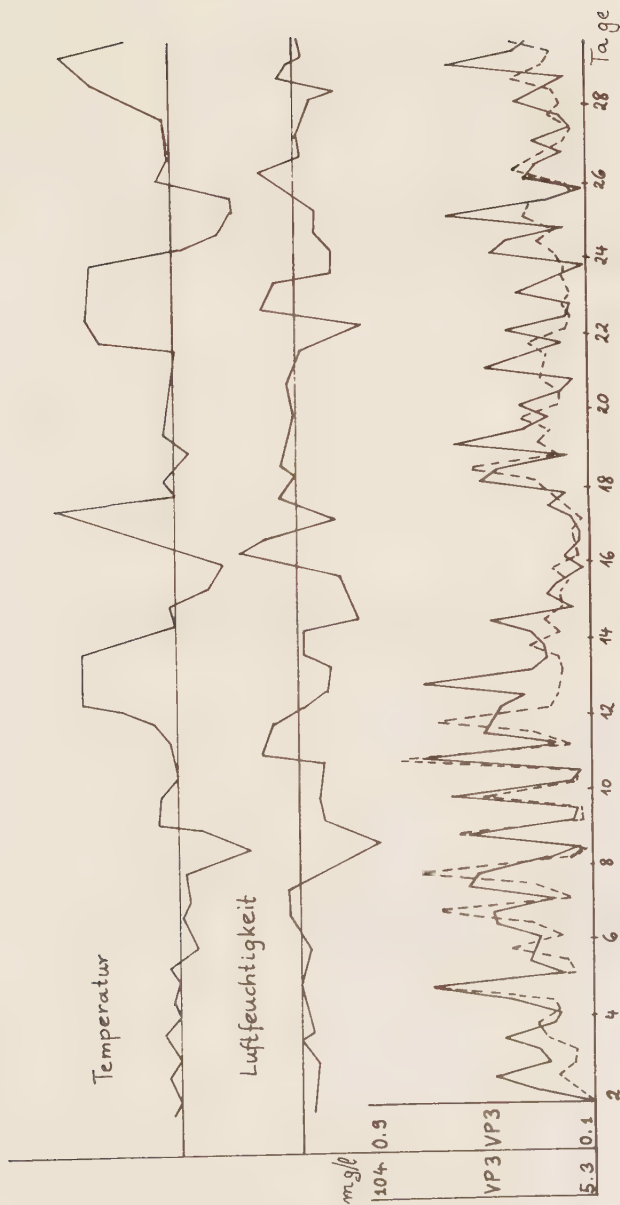
Abb.20



Hydroxyprolin-Menge (----) während des Klimakammerversuchs 3

Hydroxyprolin-Konzentration (—) - Versuchsperson 2 -

Abb. 21



Hydroxyprolin-Menge (----) während des Klimakammerversuchs 3

Hydroxyprolin-Konzentration (—) - Versuchsperson 3 -

Abb. 22

51 Einfache Auswertungsverfahren

511 Tagesperiodik (s. Abb. 20 - 22)

Die Kurven der Urinwerte werden zunächst auf eine eventuell vorhandene Tagesperiodik hin untersucht. Durch die drei Meßpunkte pro Tag sind folgende schematische Kurvenverläufe möglich:

Typ	0		$1 = 2 = 3$	
"	1a		$1 \leq 3$	} $2 = \text{Maximum}$
"	1b		$1 > 3$	
"	2a		$1 \leq 3$	} $2 = \text{Minimum}$
"	2b		$1 > 3$	
"	3a		$1 \leq 3$	} $2 = 1 \text{ oder } 2 = 3 \text{ oder } 1 < 2 < 3 \text{ oder } 1 > 2 > 3;$
"	3b		$1 > 3$	

Aus der Häufigkeit der einzelnen Kurventypen kann auf die Existenz einer Systematik geschlossen werden. Die Verlaufskurven von Hydroxyprolinexkretion werden getrennt betrachtet.

512 Zusätzliche Bemerkungen

Ein gleicher Meßwert w (Symbol =) wird angenommen bei:

(1) $w_n = w_{n-1}$

(2) $w_n \neq w_{n-1}$, wenn $(w_n, w_{n-1}) = 15\%$ der Differenz von $w_{\max}$ und $w_{\min}$.

Dasselbe gilt für die Kurven von Temperatur und Luftfeuchtigkeit, wobei $\pm 15\%$ einer Temperaturdifferenz von $\pm 2,2^\circ\text{C}$ und einer Luftfeuchtigkeitsdifferenz von $\pm 4\%$ entsprechen.

1.1.1. Hydroxprolin-Konzentration:

<u>VP 1</u>		Anzahl	Prozentuale Häufigkeit	
Typ	1a	2	7 %	} 42 %
"	1b	10	35 %	
"	2a	2	7 %	} 32 %
"	2b	7	25 %	
"	3a	3	10 %	
"	3b	4	14 %	

<u>VP 2</u>				
Typ	1a	5	19 %	} 33 %
"	1b	4	14 %	
"	2a	3	10 %	} 29 %
"	2b	5	19 %	
"	3a	5	19 %	
"	3b	6	21 %	

<u>VP 3</u>				
Typ	1a	3	10 %	} 20 %
"	1b	3	10 %	
"	2a	4	14 %	} 21 %
"	2b	2	7 %	
"	3a	3	10 %	
"	3b	13 ⁺	46 % ⁺	

⁺Der Typ 3b wurde 13mal nach dem Tag 13, also innerhalb 15 Tagen gefunden.

1.1.2. Hydroxyprolin-Exkretion

<u>VP_1</u>		Anzahl	Prozentuale Häufigkeit	
Typ	1a	13	46 %	} 56 %
"	1b	3	10 %	
"	2a	6	21 %	
"	2b	0	0 %	
"	3a	6	21 %	
"	3b	0	0 %	
 <u>VP_2</u>				
Typ	1a	8	28 %	} 42 %
"	1b	4	14 %	
"	2a	3	10 %	
"	2b	1	3,5 %	
"	3a	10	36 %	
"	3b	2	7 %	
 <u>VP_3</u>				
Typ	1a	5	19 %	} 22 %
"	1b	1	3,2 %	
"	2a	10	36 %	
"	2b	0	0 %	
"	3a	11	39 %	
"	3b	1	3,5 %	

1.2. Zusammenhang zwischen Hydroxyprolinkonzentration und Harnvolumen

VP 1 :	paralleles Verhalten	33
	antiparalleles "	51
VP 2 :	paralleles "	30
	antiparalleles "	54
VP 3 :	paralleles "	31
	antiparalleles "	53

1.2.2. Zusammenhang zwischen Hydroxyprolinmenge
und steigend/fallendem Harnvolumen
(Urinmenge/Zeitabschnitt)

VP 1 :	paralleles Verhalten	16
	antiparalleles "	68
VP 2 :	paralleles "	20
	antiparalleles "	64
VP 3 :	paralleles "	29
	antiparalleles "	55

1.3.1. Zusammenhang zwischen Hydroxyprolin-Kon-
zentration und steigender/fallender Diurese
(Urinmenge/Zeit)

VP 1 :	paralleles Verhalten	27
	antiparalleles "	57
VP 2 :	paralleles "	29
	antiparalleles "	55
VP 3 :	paralleles "	21
	antiparalleles "	63

1.3.2. Zusammenhang zwischen Hydroxyprolinmenge
und steigender/fallender Diurese

VP 1 :	paralleles Verhalten	53
	antiparalleles "	31
VP 2 :	paralleles "	46
	antiparalleles "	38
VP 3 :	paralleles "	45
	antiparalleles "	39

52 Die HALBQUANTITATIVE KURVENAUSWERTUNG

2.1. Prinzip der halbquantitativen Kurvenauswertung

Die naheliegende Methode einer Auswertung besteht in einem direkten optischen Vergleich der "Reizkurven" von Temperatur und Luftfeuchtigkeit mit denen der Urinwerte.

Bei der halbquantitativen Kurvenauswertung wendet man dieses Grundprinzip durch folgendes Vorgehen an: Der graphisch dargestellte Verlauf einer Meßgröße wird in eine schematische (d.i. halbquantitative) Form übergeführt.

Dabei wird untersucht, wie sich ein Wert w_n zu einem Vergleichswert w_{n-1} , also zum vorausgegangenen Wert verhält.

Aussage	Symbol
---------	--------

$w_n > w_{n-1}$	+
-----------------	---

$w_n = w_{n-1}$	=
-----------------	---

$w_n < w_{n-1}$	-
-----------------	---

Die absoluten Beträge der Werte und die absoluten Beträge der Differenzen zweier zu vergleichender Werte sind hier unbedeutend.

Beispiel: graphisch



halbquantitativ + - = + = -

(Definition von +, -, = siehe Seite 32/512)

Es werden grundsätzlich nur Werte desselben Meßtermins in Relation zueinander gesetzt, um einerseits tagesperiodische Schwankungen, andererseits um auch Trends zu eliminieren.

Beispiel: T 1 (Tag 16) mit T 1 (Tag 17).

Nicht T 1 und T 2.

Jetzt kann durch Vergleich der schematischen Darstellungen nach einem Klimaeinfluß gesucht werden.

Dabei treten 9 Möglichkeiten auf:

Reiz (Rz)	Reaktion	Beurteilung	Abkürzung
w oder f	+	} parallele Reaktion	(p)
k oder t	-		
w oder f	-	} antiparallele Reaktion	(ap)
k oder t	+		
=	=	} keine Reaktion	(x)
w oder f	=		
k oder t	=		
=	+	} Reaktion ohne vorausgegangenen Reiz	(x _z - R)
=	-		

Das erste Ergebnis entsteht durch Auszählen aller Symbolpaare und ist einer der folgenden Aussagen zuzuordnen:

- 1) Reiz- und Urinkurven laufen parallel.
- 2) Reiz- und Urinkurven laufen antiparallel.
- 3) Es gibt keine offensichtliche Übereinstimmung.

Falls ein deutlich von den Bedingungen im Bioklimaraum unterschiedlicher Klimareiz während mindestens zweier aufeinanderfolgender Tage unverändert blieb, wird nach folgender Tabelle verfahren.

Reiz	Reaktion	Beurteilung
=(w, f)	=	p, ap
=(k, t)	=	p, ap
=(w, f)	+	p
=(k, t)	-	p
=(w, f)	-	ap
=(k, t)	+	ap

Die Klammerangaben kennzeichnen die Art des gleichbleibenden Reizes. Somit kann jede ausgeprägte Klimaänderung auch als solche beurteilt werden.

2.2. Übertragung der klimatischen Reize in die schematische Form

2.2.1. Feuchtigkeitsreize Urin 1

3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Tag
=	=	=	=	=	=	-	+	=	+	-	=	-	=	+	=	
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Tag					
=	=	=	=	+	-	=	=	=	=	=						

2.2.2. Feuchtigkeitsreize Urin 2

3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Tag
=	=	=	=	=	-	+	=	+	-	=	=	-	+	-	+	
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Tag					
=	=	=	-	+	-	=	+	-	-	+						

2.2.3. Temperaturreize Urin 1

3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Tag
=	=	=	=	=	=	-	+	=	=	+	-	-	=	+	-	
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Tag					
=	=	=	+	+	-	-	=	+	=	+						

2.2.4. Temperaturreize Urin 2

3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Tag
=	=	=	=	=	=	+	=	=	+	+	-	-	+	+	-	
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Tag					
=	=	=	+	+	-	-	+	=	+	-						

2.3.0. Hydroxyprolinmenge Urin 1 (T 1) VP 1 -3

		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Tag
VP	1	=	=	+	-	=	+	-	+	=	-	+	-	=	+	
VP	2	+	+	+	-	+	-	+	=	=	=	=	=	=	+	
VP	3	=	+	-	+	-	=	-	+	+	+	-	=	=	-	
		17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		Tag
VP	1	=	=	+	-	-	+	-	=	-	+	-	+	-		
VP	2	+	=	-	+	=	=	=	=	-	+	=	+	-		
VP	3	=	+	=	-	+	-	=	+	+	-	-	+	+		

2.3.1. Hydroxyprolinmenge Urin 2 (T 2) VP 1 - 3

	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Tag
VP 1	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	=	
VP 2	=	=	-	+	=	-	+	+	-	-	+	-	-	+	
VP 3	+	=	-	+	=	-	=	+	+	-	=	+	-	-	

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Tag
VP 1	+	-	=	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	
VP 2	-	+	=	-	+	+	=	-	+	-	+	-	+	
VP 3	+	+	-	-	+	-	+	+	+	=	-	+	=	

2.3.2. Hydroxyprolinkonzentration Urin 1 (T 1)

	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Tag
VP 1	=	+	+	-	=	=	+	+	-	-	=	=	-	+	
VP 2	+	=	+	-	+	-	+	-	-	+	=	=	-	+	
VP 3	=	-	=	+	-	+	-	=	+	+	-	=	-	-	

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Tag
VP 1	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	
VP 2	+	=	-	=	+	=	-	+	-	+	-	+	-	
VP 3	+	+	+	-	+	-	=	+	+	-	=	+	+	

2.3.3. Hydroxyprolinkonzentration Urin 2 (T 2)

	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Tag
VP 1	+	=	-	-	+	-	=	+	-	-	=	-	+	+	
VP 2	+	-	-	=	+	-	+	=	=	+	+	-	-	=	
VP 3	=	=	-	+	+	-	=	=	+	-	-	+	-	-	

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Tag
VP 1	+	-	=	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	
VP 2	=	+	=	-	=	+	-	-	+	-	+	-	+	
VP 3	+	+	-	-	-	-	+	+	-	=	-	+	+	

2.4.0. Auswertung : zahlenmäßige Aufschlüsselung

2.4.1. Hydroxyprolinmenge T 1

Feucht-trocken:

	Reiz → p	ap	keine Reaktion	$\overline{Kz} \rightarrow R$	$\overline{Kz} \rightarrow \overline{K}$
VP 1	3	4	3	12	5
VP 2	2	2	6	12	5
VP 3	5	2	3	13	4

Temperatur:

	Reiz → p	ap	keine Reaktion	$\bar{R}z \rightarrow R$	$\bar{R}z \rightarrow \bar{R}$
VP 1	6	5	4	8	4
VP 2	2	4	8	9	4
VP 3	5	6	3	9	4

Untersucht man die Frage, ob ein Reiz überhaupt mit einer direkten Antwort beantwortet wird, faßt man p, ap, kein Reiz - keine Reaktion zusammen.

Luftfeuchtigkeit			
	Reiz → Antw.	Reiz → keine A.	kein Reiz → A.
VP 1	12	3	12
VP 2	9	6	12
VP 3	11	3	13
VP 123	32	12	37
Temperatur			
VP 1	15	4	8
VP 2	10	8	9
VP 3	15	3	9
VP 123	40	15	26

2.4.2. Hydroxyprolinmenge T 2

Feucht-trocken:

	Rz→p	Rz→ap	Rz→ $\bar{R}$	$\bar{R}z \rightarrow R$	$\bar{R}z \rightarrow \bar{R}$
VP 1	8	7	1	10	1
VP 2	10	5	3	7	4
VP 3	8	5	3	8	3

Temperatur

VP 1	8	6	1	9	1
VP 2	7	7	0	8	5
VP 3	4	7	3	10	3

Nach Zusammenfassung von p, ap, $\bar{R}z \rightarrow \bar{R}$:

	p	ap	$\bar{R}z \rightarrow \bar{R}$
Feucht-trocken			
VP 1	16	1	10
VP 2	19	1	7
VP 3	16	3	8
Temperatur			
VP 1	15	1	9
VP 2	19	0	8
VP 3	14	3	10

2.4.3. Hydroxyprolinkonzentration T 1

	Rz $\rightarrow$ p	Rz $\rightarrow$ ap	Rz $\rightarrow \bar{R}$	$\bar{R}z \rightarrow R$	$\bar{R}z \rightarrow \bar{R}$
Feucht-trocken:					
VP 1	4	5	1	13	4
VP 2	4	5	1	12	5
VP 3	6	2	2	13	4
Temperatur:					
VP 1	5	8	2	9	3
VP 2	3	8	4	10	2
VP 3	6	5	3	10	3

Nach Zusammenfassung von p, ap, $\bar{R}z \rightarrow \bar{R}$

Feucht-trocken:

VP 1	13	1	13
VP 2	14	1	12
VP 3	12	2	13

Temperatur:

VP 1	16	2	9
VP 2	13	4	10
VP 3	14	3	10

2.4.4. Hydroxyprolinkonzentration T 2

	Rz→p	Rz→ap	Rz→R	Rz→R	Rz→R
Feucht-trocken:					
VP 1	8	7	1	8	3
VP 2	7	6	3	7	4
VP 3	10	4	2	8	3

Temperatur:

VP 1	7	6	1	10	3
VP 2	7	4	4	7	5
VP 3	5	8	2	9	3

Nach Zusammenfassung von p, ap, Rz→R:

Feucht-trocken

VP 1	18	1	8
VP 2	17	3	7
VP 3	17	2	8

Temperatur:

VP 1	16	1	10
VP 2	16	4	7
VP 3	16	2	9

2.4.5. p - ap - Verhalten

(Unter der Voraussetzung, daß steigende Lufttemperatur ähnlich wirkt, wie steigende Luftfeuchtigkeit.)

	p	ap
VP 1		
LF:	28	28
Te:	37	36
VP 2		
LF:	31	36
Te:	35	39
VP 3		
LF:	43	27
Te:	33	39

2.5.0. Zusammenhang zwischen den Versuchspersonen in Bezug auf +,-,= Verhalten bei Hydroxyprolin-konzentration an allen Tagen

	Anzahl (+,-,=)	Summe	Prozent
T 1			
VP 1-2	(7,7,2)	16	59 %
VP 2-3	(5,1,1)	7	26 %
VP 1-3	(4,2,2)	8	19 %
VP 123	(3,1,1)	5	18 %
T 2			
VP 1-2	(5,7,1)	13	48 %
VP 2-3	(3,4,1)	8	29 %
VP 1-3	(3,5,2)	10	37 %
VP 123	(2,3,0)	5	18 %
T 3			
VP 1-2	(3,4,2)	9	33 %
VP 2-3	(5,2,1)	8	29 %
VP 1-3	(4,6,0)	10	37 %
VP 123	(1,2,0)	3	11 %

Die Versuchspersonen 1 und 2 zeigen morgens und mittags einen Zusammenhang, während bei 1 und 3 mittags und abends noch am ehesten ein Zusammenhang abzulesen ist.

2.5.1. Zusammenhang bei Hydroxyprolinmenge

T 1			
VP 1-2	(4,3,4)	11	40 %
VP 2-3	(2,0,3)	5	18 %
VP 1-3	(2,3,3)	8	29 %
VP 123	(1,0,1)	2	7 %
T 2			
VP 1-2	(6,8,1)	15	55 %
VP 2-3	(5,5,2)	12	45 %
VP 1-3	(4,5,0)	9	33 %
VP 123	(2,4,0)	6	21 %
T 3			
VP 1-2	(3,3,0)	6	21 %
VP 2-3	(5,4,1)	10	37 %
VP 1-3	(3,3,0)	6	21 %
VP123	(0,1,0)	1	3,5 %

2.5.2. Zusammenhang in der Kontrollwoche
im Zeitraum 8. - 28. Tag

Kontrollwoche			8. - 28. Tag	
T 1				
VP 123	0	0 %	5	22 %
VP 1-2	2	40 %	14	59 %
VP 2-3	0	0 %	7	31 %
VP 1-3	1	20 %	8	36 %
T 2				
VP 123	2	40 %	3	13 %
VP 1-2	3	60 %	10	45 %
VP 2-3	2	40 %	6	21 %
VP 1-3	3	60 %	7	31 %
T 3				
VP 123	2	40 %	1	4 %
VP 1-2	4	80 %	6	27 %
VP 2-3	3	60 %	5	22 %
VP 1-3	2	40 %	8	36 %

2.5.3. Zusammenhang an Tagen mit Feucht- bzw.
Temperaturreizen (ohne T 3)

<u>Feucht-Trocken:</u>	T 1		T 2		
VP 123	2	20 %	2	12 %	
VP 1-2	8	80 %	7	42 %	T 1: 10
VP 2-3	4	40 %	4	24 %	T 2: 16
VP 1-3	3	30 %	6	36 %	Termine
<u>Temperatur:</u>					
VP 123	4	28 %	1	7 %	T 1: 15
VP 1-2	12	82 %	7	49 %	T 2: 15
VP 2-3	4	28 %	3	21 %	Termine
VP 1-3	5	35 %	4	28 %	

53 Beschreibung und Diskussion der Hydroxyprolin-konzentrations- und Hydroxyprolinmenge-Kurven

3.1. Vorbemerkung

Die Tage 02 - 07 (6 Werte) werden als Kontrollwoche gewertet. Sie enthalten keine klimatischen Reize. Es sei denn, man würde die "unnatürliche" Situation eines "Nullklimas" (Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsänderungen nur innerhalb der $\pm 15\%$ Grenze) als Reiz- bzw. als Stresssituation besonderer Art werten.

Es soll aber zunächst nur interessieren, ob eine klimatische Änderung im Sinne einer Temperatursteigerung oder eines Temperaturabfalles eine charakteristische Änderung im Hydroxyprolinhaushalt zur Folge hat. Gleiches gilt für die Frage nach dem Einfluß der Luftfeuchtigkeit.

Zwei Varianten der Änderung können nun auftreten: Entweder findet man eine "Antwort" auf einen bestehenden Reiz, oder aber man findet nur dann eine Antwort, wenn eine Änderung der Reize gegeben ist. Deshalb muß man wohl die einzelnen 28 Versuchstage genau unterscheiden. Tage mit Reizen; Tage ohne Reize; Tage vor und nach Reizen; Tage, an denen klimatische Umschwünge stattfanden.

3.2. Aufschlüsselung der verschiedenen Termine

Warm : 12,13,16,17,22,23,28; (siehe Abb. 8 - 11)
Kalt : 8, 15,24,25;
Feucht : 11,16,22,26;
Trocken: 8,14,15,17,22,23,24,28;

kombinierte Klimabedingungen:

Feucht-warm : 16,22;
Trocken-warm: 13,17,22,23,28;
Trocken-kalt: 8,15,24;
Feucht-kalt : kein Termin.

Tage mit Umschwung zwischen T 1 und T 2:

Feucht-trocken: 22 (T 1 feucht, T 2 trocken)
 17 (T 1 " T 2 ")
Warm-kalt : 9 (T 1 warm, T 2 kalt)
 26 (T 1 kalt, T 2 warm)
 28 (T 1 normal, T 2 warm)

Tage ohne jeglichen Reiz
2 - 7 (8), 18 - 21 (22) und 27;

"feuchte"	T 1 nach "trockenen"	T 1 : 10,17;
"trockene"	T 1 nach "feuchten"	T 1 : 9, 15,24;
"feuchte"	T 2 nach "trockenen"	T 2 : 16,23,26;
"trockene"	T 2 nach "feuchten"	T 2 : 8,17,22,24;
"warme"	T 1 nach "kalten"	T 1 : 10,17,29;
"kalte"	T 1 nach "warmen"	T 1 : 14,18,24;
"warme"	T 2 nach "kalten"	T 2 : 12,17,22;
"kalte"	T 2 nach "warmen"	T 2 : 14,18,24;

Reize, die länger als einen Tag anhalten:

"warm"	T 1 : 22-23;
"kalt"	T 1 : 25-26;
"warm"	T 2 : 12-13, 22-23;
"kalt"	T 2 : keine Tage.
"feucht"	T 1 : keine Tage;
"trocken"	T 1 : " "
"feucht"	T 2 : " "
"trocken"	T 2 : " "

3.2.1. Den vorausgegangenen Bemerkungen zufolge werden die Urinwerte von T 3 nicht in die engere Betrachtung einbezogen, da ihnen keine klimatischen Reize vorausgegangen waren.

Um aber eventuell vorhandenen längerfristigen Antwortstand nicht zu übersehen, muß man auch die T 3-Werte mit den klimatischen Bedingungen in Bezug bringen, die vorwiegend am selben Tag geherrscht haben.

Keine klimatischen Bedingungen : 2-7, 18-21;
 "feuchte" Tage : 11,14,16,17,23,26,29;
 "trockene" Tage : 8, 9,15,22,24;
 "warme" Tage : 12,13,17,22,23,29;
 "kalte" Tage : 9,15,16,25,26;

3.2.2. Schließlich werden die Kurven T 1, T 2, T 3 der Versuchspersonen miteinander verglichen.

54 Beschreibung der einzelnen Kurven

4.1. Gesamter Verlauf (ohne Aufschlüsselung nach Terminen und "Reizarten")

4.1.1. VP 1 (Abb. 20)

Konzentration: Auf den ersten Blick fallen Perioden ähnlichen Verhaltens auf: 2-5, 13-16, 16-21; Tag 2 - 3 hohe Werte, die an 5,6,7 niedriger sind, Jedoch insgesamt das Maximum an Tag 7 erreichen. 9,10,11 haben unterschiedlich hohe und niedrige Werte, aber konstante Amplituden. Während dieser Periode: vorwiegend trocken-kalt.

Ab 11 und 12 fällt die Kurve insgesamt und erreicht während der "Warm"-Zeit dann an 13 ihr erstes Minimum. Zwar nimmt die Temperatur an 14 wieder ab, doch bleiben die Werte auf ihrem niedrigsten Niveau; ebenso die Amplituden.

16,17-19: Die Werte und Amplituden nehmen langsam wieder zu, gleichgültig ob Temperaturschwankungen oder Änderungen der Luftfeuchtigkeit vorliegen wie an 16, oder ob es klimatisch "ruhig" ist wie an 18-19.

20-21: Die Werte und Amplituden nehmen ab; eine verspätete Antwort auf das Nullpunktklima?

22: Hoher Wert und hohe Amplitude gehen einher mit ansteigender Temperatur und trockener Luft.

23: Die Konzentration nimmt ab, die Amplitude verringert sich bei jedoch konstanten klimatischen Bedingungen.

24: Temperatur und Feuchtigkeit nehmen ab, Wert und Amplitude zu.

25: Wechsel warm-kalt; die Kurve erreicht ihr Minimum mit der geringsten Amplitude.

26: Wechsel kalt-normal und trocken-feucht: Konzentration steigt rapide an, ebenso die Amplitude, die an 26 ihr Maximum hat.

27: Nullpunktwetter, die Werte liegen nur geringfügig geringer als an 26.

28: Neue klimatische Reize gehen einher mit einer geringen Zunahme der Werte.

29: Hohe Temperatur, mittlerer Wert, geringe Amplitude.

Menge: Nach anfänglich hohen Ausscheidungsraten und Amplituden tritt eine Verflachung dieser Kurve ein. Ebenfalls tritt eine deutliche Abnahme der Amplituden ein. Ausnahme: die Tage 10,22,26.

Die niedrigsten Werte und Amplituden finden sich im Zeitraum 12 - 16. Diese Periode beinhaltet ja warme Tage mit wechselnder Luftfeuchtigkeit. Auch der Wechsel (15-16) auf kalt-feucht ändert an diesem Verhalten nichts.

4.1.2. VP 2 (siehe Abb. 21)

Konzentration: In der ersten Woche finden wir mittlere bis hohe Werte (Maximum an 5), vor allem stark schwankende Amplituden. Am Tag 8, -Beginn von kalt-trocken- finden wir den niedrigsten T 2-Wert. Von 9-12 bei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen in sich konstantes Kurvenverhalten. Ab 13 nehmen die Amplituden und Werte wieder ab. 17-24: Jeweils hoher T 1-Wert, niedrigere T 2 und T 3. Geringe Werte und Amplituden zeigt 25, nachdem erneut Kalt-Trocken-Reize gesetzt worden waren. 27: minimale Amplitude.

Zusammenfassung: Die Amplituden liegen insgesamt gesehen in der ersten (Kontroll-)Woche am höchsten. Ebenfalls treten ab 24 wieder Amplitudenschwankungen auf. Überdies kann man zwei Perioden ähnlichen Kurvenverlaufes bemerken: 9-12 und 17-24. Jedoch gleichen sich die beiden Muster nicht.

Menge: Die deutlichen Maxima und Minima liegen in der ersten Woche. Die gleichen klimatischen Bedingungen herrschen von 18 - 21; hier finden wir zwar einen relativen Anstieg der Werte im Vergleich zur vorangegangenen Periode, jedoch werden die Werte von 2 - 7 nicht mehr erreicht.

4.1.3. VP 3 (Abb. 22)

Konzentration: 1. Woche: verschieden hohe Werte, periodisch steigend 5-7. Von 6-11 stetig ansteigende Amplituden. 9,10,11,12 weisen die Besonderheit auf, daß $T 1 < T 2 < T 3$. An 11 wird der höchste überhaupt gemessene Abendwert gefunden. Ab 11-13 zwar gleiches Tagesmuster, jedoch stark abfallende Amplituden. 15-17 weisen die geringsten Werte und Amplituden auf.

Ab 18, d.h. mit Beginn des "Nullklimas" Zunahme der Werte und Amplituden.
18 - 24: konstanter Kurvenverlauf, trotz erneuten Beginns von Klimareizen.
25: Höhere Amplituden.
27 - 29: steigende Werte.
Wichtig ist der Hinweis auf die Tagesperiodik von VP 3: 13mal ab Tag 13 die Periodik Typ 3b!

Menge: Auf den ersten Blick ähnelt die Kurve sehr der der Konzentration. Man beachte jedoch die gesonderte Kurve der Amplituden. Es fällt dann auf, daß die Perioden immer treppenweise von 2 - 12 ansteigen. 1 Schritt zurück und 2 vor. Die Amplituden sind am geringsten von 13 - 17, bei wechselndem Klima also. 18 unterbricht dieses Verhalten, das von 19 - 24 wieder erscheint. 25 -26 zeigt einen geringen Anstieg der Amplituden, jedoch nicht mehr auf das Niveau von 2 - 12.

Zusammenfassung: Nach anfänglich hoher Hydroxyprolinurie tritt eine Beruhigung des Hydroxyprolinstoffwechsels ein, geringfügig unterbrochen von 17 - 19 und 25 - 29.

4.2. Kurven von T 1

4.2.1. T 1 / VP 1 (Abb. 24)

Feuchtigkeit:

Konzentration: 2-7: Kontrollwoche. schwankende Werte, Maximum an 5.

- 8 - 10: Trocken, stetes Ansteigen der Konzentration
- 11 - 15: Trocken, Absinken; Einfluß von 12 Feucht?
- 16 - 17: Feucht, Ansteigen;
- 17 - 19: "Nullklima", Ansteigen;
- 20 - 23: " Abnahme;
- 24 : Trockener Reiz, Anstieg, sofort gefolgt von
- 25 : niedrigstem gemessenen T 1-Wert;
- 26
- 29 : schwankende Werte, insgesamt abnehmend.

Zusammenfassung:

Zwei Perioden ähnlichen Verlaufs: 20-24
24-29

Es handelt sich dabei beide Male um Übergänge von Normal zu Feucht, Trocken zu Normal bzw. Trocken-Feucht.

T1 / VP1 Temperatur

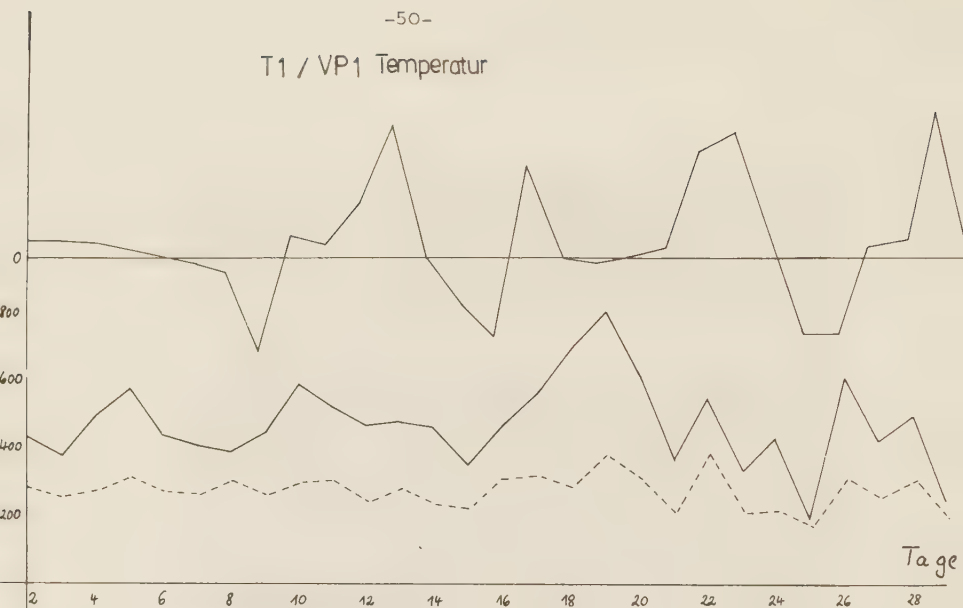


Abb. 23: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Temperatur zum Urinabgabetermin T_1 der Versuchsperson 1.

T1 / VP1 Luftfeuchtigkeit

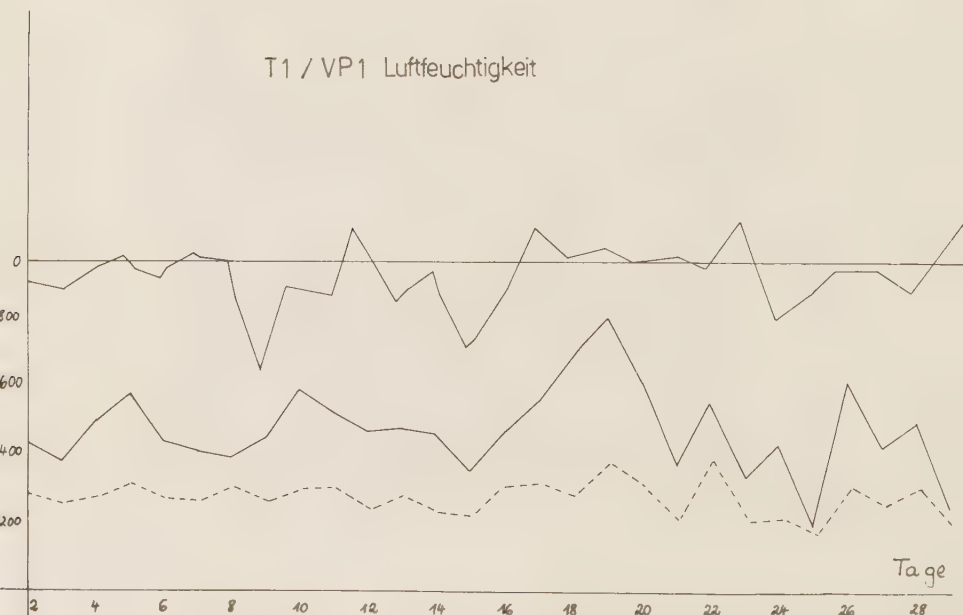


Abb. 24: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Luftfeuchtigkeit zum Urinabgabetermin T_1 der Versuchsperson 1.

Außerdem fällt auf: 3 Tage Zunahme
4 " Abnahme
4 " Zunahme
3 " Abnahme

Es besteht jedoch bei diesem 3:4:4:3 Verhalten kein Zusammenhang mit dem entsprechenden Feuchtigkeitsverlauf.

Menge: 2 - 18: Trotz unterschiedlichster klimatischer Bedingungen kaum nennenswerte Änderungen der Hydroxyprolinmenge.

19 - 20: Beginn größerer Schwankungen, wie bei Konzentration.

22 : Maximum hängt mit dem Ende des "Nullklimas" zusammen.

25 : Minimum hängt mit abklingender Trockenheit zusammen.

Zusammenfassung:

Tage	2 - 7	1. Woche ohne Reiz	}	Verhalten: ähnlich
"	8 - 18	2. Woche mit "		
"	18 - 22	3. " ohne "	}	ähnlich
"	22 - 28	4. " mit "		

Obwohl jeweils unterschiedliche klimatische Situationen vorlagen, haben wir zwei Perioden gleichen Verhaltens. Sicher kann bei T 1/ VP 1 nicht von einem p/ap-Antwortmuster gesprochen werden.

Temperatur: (Abb. 23)

Es gilt das gleiche wie für die Feuchtigkeit. Auffallend ist beim Vergleich mit der Temperaturkurve lediglich:

An Tagen mit Kälte (9,15-16, 25-26) haben wir niedrige (25) Werte gefolgt von einem neuen Anstieg.

4.2.2. T 1/VP 2 (siehe Abb. 26)

Luftfeuchtigkeit:

Konzentration: 2 - 7 stark schwankende Werte.

8 - 9 erste Trockenperiode mit Minimum, dann 10 - 11 wieder zunehmend.

12 - 16 konstantes Ausscheidungsverhalten bei verschieden starker Trockenheit.

19 - 23 Ebenfalls konstant, jedoch auf höherem Niveau.

T1/VP2 Temperatur

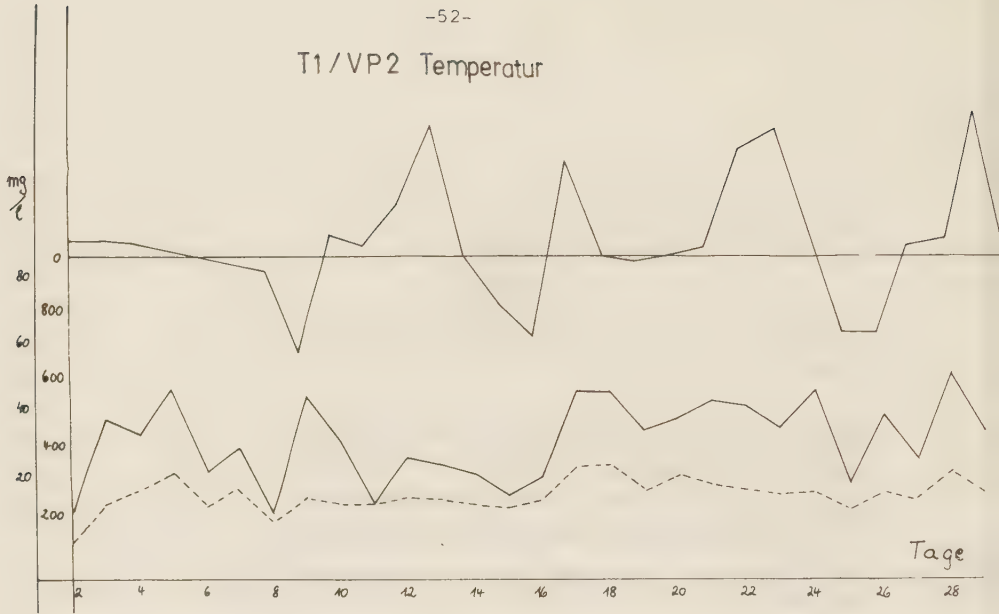


Abb. 25: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Temperatur zum Urinabgabetermin T_1 der Versuchsperson 2.

T1/VP2 Luftfeuchtigkeit

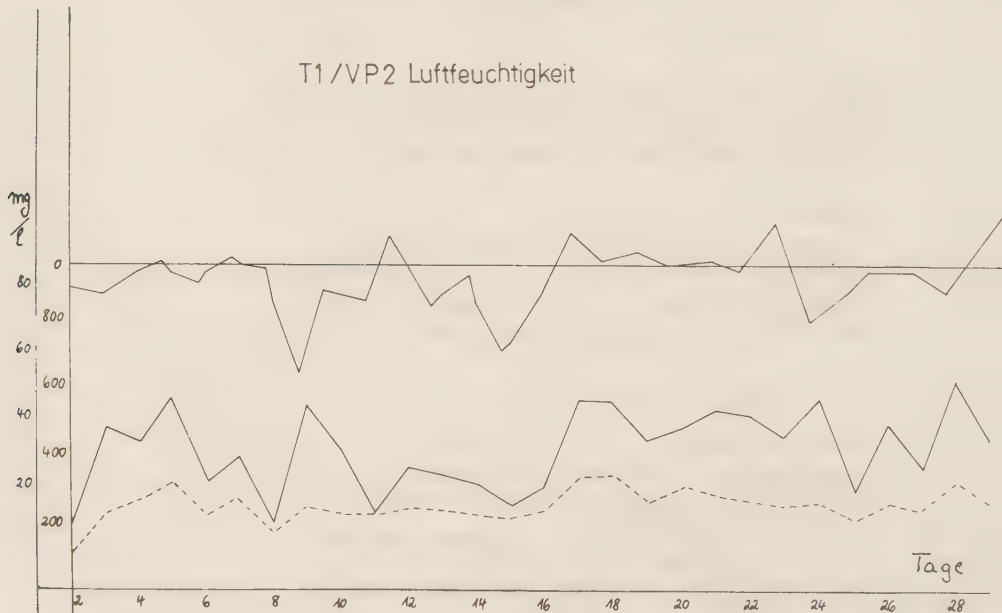


Abb. 26: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Luftfeuchtigkeit zum Urinabgabetermin T_1 der Versuchsperson 2.

23 - 29: Schwankungen, die jeweils mit denen von VP 1 in der Richtung übereinstimmen.

Zusammenfassung: kein p/ap-Antwortmuster.

Menge:

- 2 - 8: Die Kurve beginnt mit ihrem Minimum, dann stark schwankend.
- 9 - 16: Die stärksten Änderungen der Luftfeuchtigkeit fallen zusammen mit der auffallenden Konstanz der Werte.
- 17 - 28: Maximale Ausscheidung nach starkem Wechsel von trocken auf feucht und von warm auf kalt.
- 20 - 24: Konstante Ausscheidung bei "Nullklima" und bei feucht-warm (vgl. 9 - 16).
- 25 - 29: Schwankend.

Temperatur: (Abb. 25)

Konzentration: Man beachte: 12 - 16 trotz Null-Warm-Null-Kalt konstante Werte.

Zusammenfassung: Konstante Konzentration und Ausscheidung bei wechselnder klimatischer Lage. 17 - 18 könnte den Verdacht erwecken, daß hier der Reiz genügend hoch war, um die Ausscheidung zu erhöhen.

4.2.3. T 1/VP 3

Luftfeuchtigkeit: (Abb. 28)

Konzentration:

- 2 - 7: geringe Schwankungen bei konstantem Gesamtniveau.
- 8 - 9: kein Einfluß der Trockenheit bemerkbar.
- 10 - 12: Anstieg der Konzentration.
- 12 - 17: Abfall bei vorwiegend trockener Lage.
- 18 - 19: Anstieg bei Nullklima.
- 20 - 22: Schwankungen auf Niveau 18 - 19.
- 23 - 25: Anstieg gefolgt von
- 26 : Abfall!
- 27 - 29: Schließlich erneuter Anstieg parallel zur zunehmenden Luftfeuchtigkeit.

3:5:2:-:3 Verhalten erinnert an VP 1, es ist aber nicht immer gleichsinnig.

T1/VP3 Temperatur

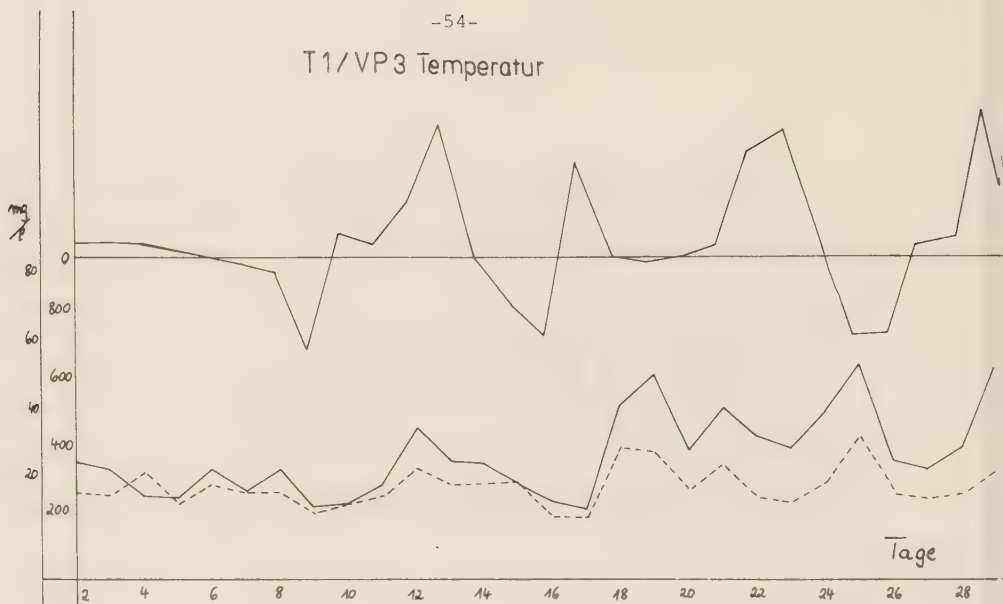


Abb. 27: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Temperatur zum Urinabgabetermin T_1 der Versuchsperson 3.

T1/VP3 Luftfeuchtigkeit

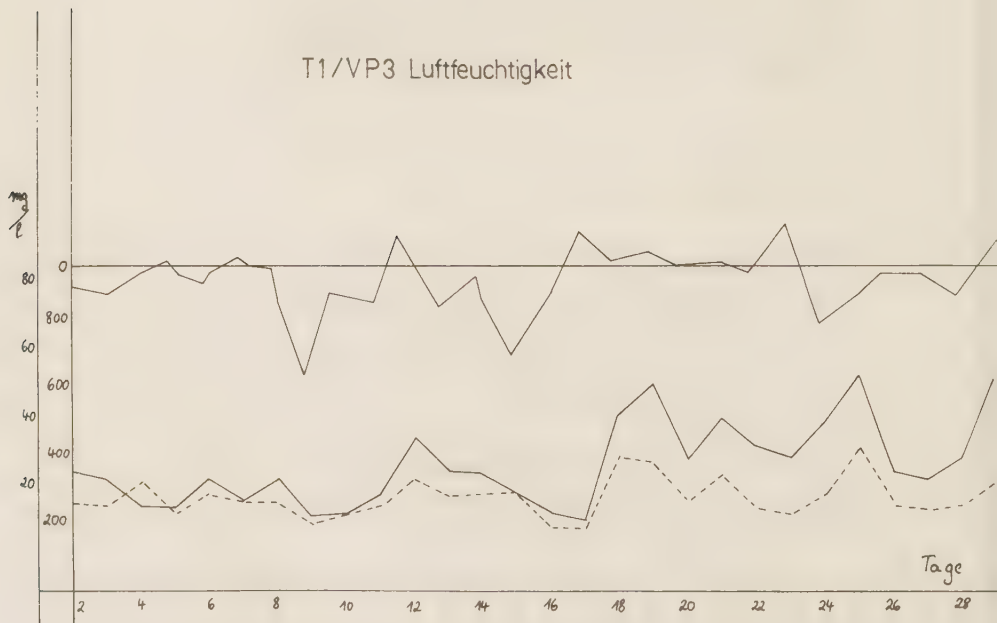


Abb. 28: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Luftfeuchtigkeit zum Urinabgabetermin T_1 der Versuchsperson 3.

Menge: Es gilt das gleiche wie für Konzentration. Auffallend ist bei Betrachtung der Kurve mit der der Temperatur: (Abb. 27)

13 - 17 (13 - 16) Abnahme der Konzentration und Ausscheidungsrate steht in Zusammenhang mit Abnahme der Temperatur. Dagegen hat die gleiche Abnahme der Temperatur an 17/18 und 23/25 das gegen sinnige Verhalten zur Folge.

Zusammenfassung:

Betrachtet man alle Kurven T 1, so könnte man zu folgendem Schluß kommen:

Abgesehen von Einzelbeobachtungen, die jedoch isoliert betrachtet, eigene Ursachen haben können, muß gesagt werden, daß hier kein Verhalten der drei Versuchspersonen erkennbar wäre, das direkt mit den klimatischen Einflüssen zu vergleichen wäre. Insbesondere läßt die geschilderte Betrachtungsweise keinen Hinweis erkennen, daß die Versuchspersonen ein p- bzw. ap-Verhalten bezüglich Temperatur- oder Luftfeuchtigkeitsänderungen aufwiesen.

Dagegen wird deutlich, daß oft Perioden unterschiedlichster Reize den gleichen Hydroxyprolin-Ausscheidungsmodus "zur Folge" haben.

Eine reine Vermutung dagegen wäre die Behauptung: Das "Nullklima" (^A=Anpassungsperiode) sei an und für sich mehr als Reizklima zu bewerten als die von den Versuchspersonen gewohnten klimatischen Unterschiede.

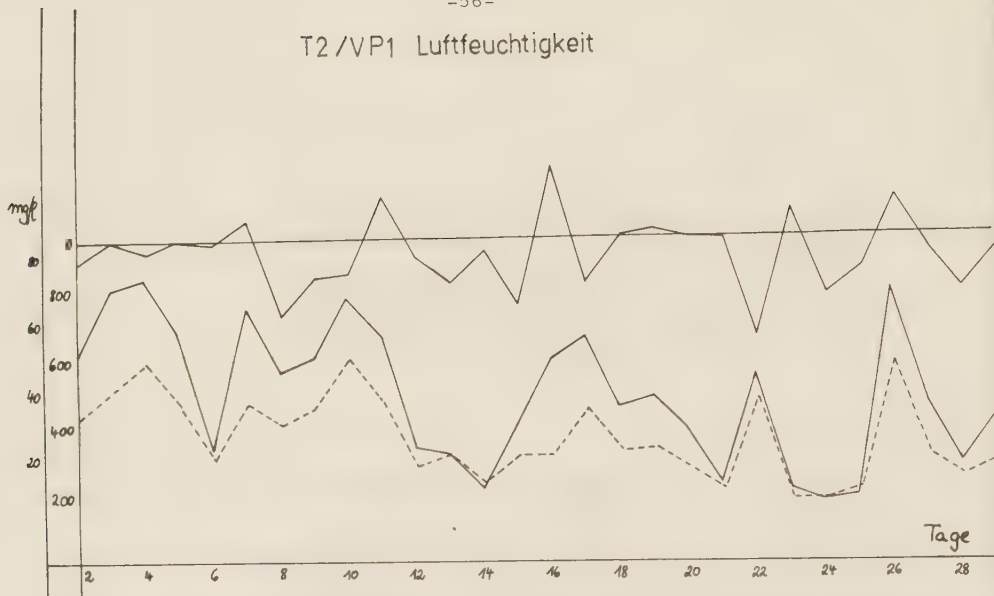


Abb. 29: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Luftfeuchtigkeit zum Urinabgabetermin T_2 der Versuchsperson 1.

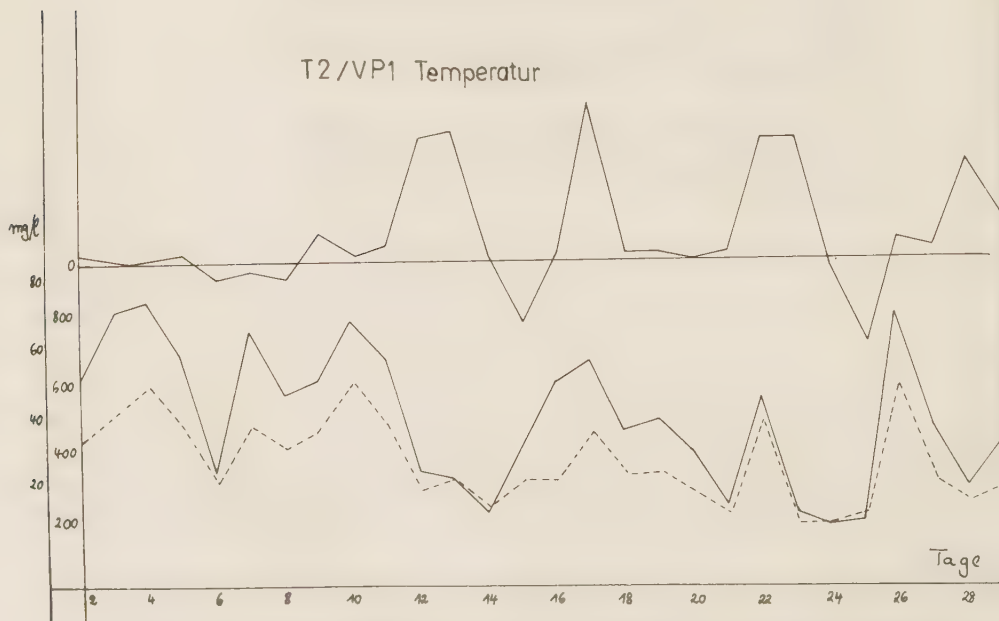


Abb.30: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Temperatur zum Urinabgabetermin T_2 der Versuchsperson 1 .

4.3. Kurven von T 2 (andere Form der Diskussion)

4.3.1. T 2/VP 1 (Abb. 29, 30)

Tage	Konz.	Menge	Luftf.	Temp.	Konz. Feucht.	Konz. Temp.
------	-------	-------	--------	-------	------------------	----------------

2						
3	+	+				
4	+	+				
5	-	-				
6	-	-				
7	+	+	+	=	p	--
8	-	-	-	=	p	--
9	+	+	+	+	p	p
10	+	+	+	-	p	ap
11	-	-	+	+	ap	ap
12	-	-	-	+	p	ap
13	-	-	-	=	p	--
14	-	-	+	-	ap	p
15	+	+	-	-	ap	ap
16	+	+	+	+	p	p
17	+	+	-	-	--	ap
18	-	-	=	=	--	p
19	-	-	=	=	--	--
20	-	-	=	=	--	--
21	-	-	=	=	--	--
22	+	+	-	+	ap	p
23	-	-	+	=	ap	--
24	-	-	-	-	p	p
25	+	+	+	-	p	ap
26	+	+	+	+	p	p
27	-	-	-	-	p	p
28	-	-	-	+	p	ap
29	+	+	+	-	p	ap

T2/VP2 Temperatur

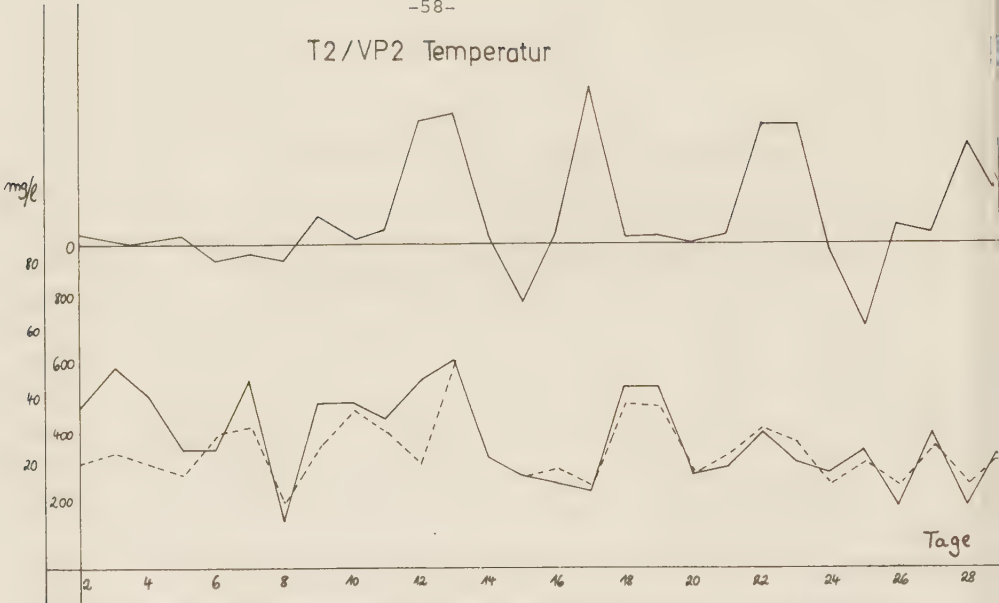


Abb. 31: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Temperatur zum Urinabgabetermin T_2 der Versuchsperson 2 .

T2/VP2 Feuchtigkeit

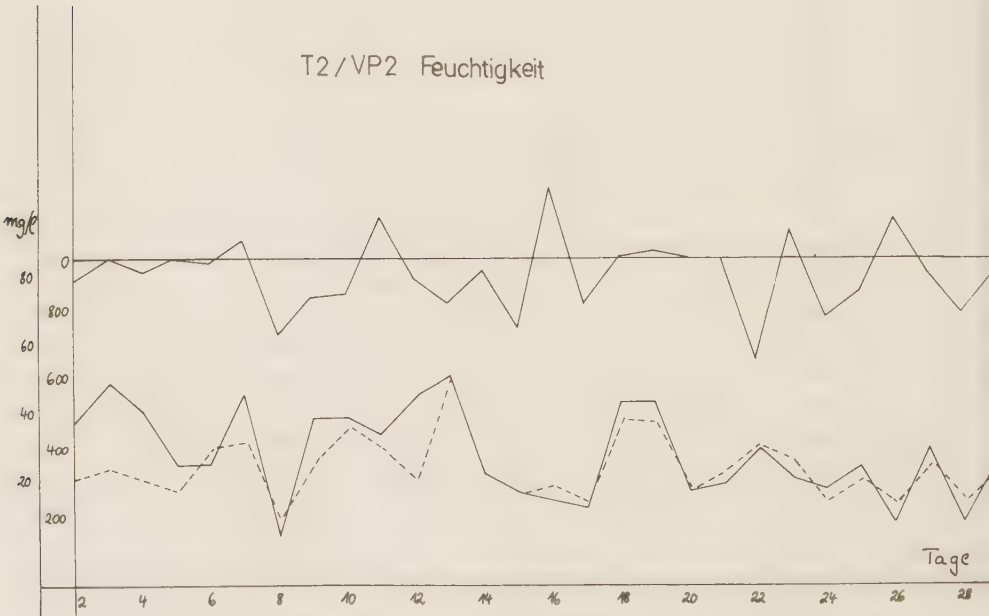


Abb. 32: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Luftfeuchtigkeit zum Urinabgabetermin T_2 der Versuchsperson 2 .

T2/VP3 Feuchtigkeit

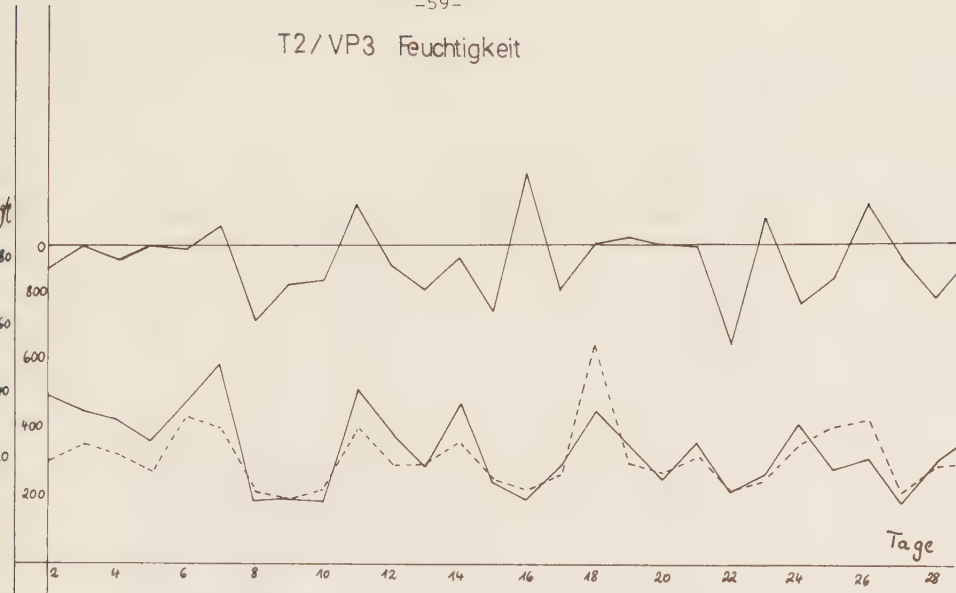


Abb. 33: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Luftfeuchtigkeit zum Urinabgabetermin T₂ der Versuchsperson 3.

T2/VP3 Temperatur

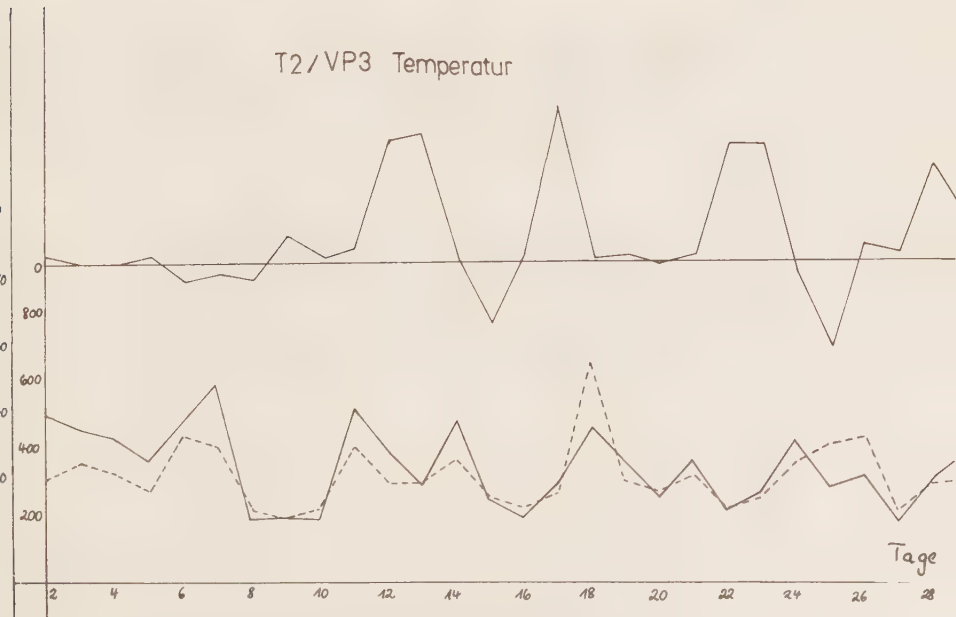


Abb. 34: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) bei Änderungen der Temperatur zum Urinabgabetermin T₂ der Versuchsperson 3.

4.3.2. T 2/VP 2 (Abb.31,32)
(ab 8. Tag)

Tage	Konz.	Menge	Luftf.	Temp.	Konz. LF	Konz. Te.
8	-	-	-	=	p	--
9	+	+	+	+	p	p
10	=	+	+	-	p	ap
11	-	-	+	+	ap	ap
12	+	-	-	+	p	ap
13	+	+	-	=	ap	--
14	-	-	+	-	ap	p
15	-	-	-	-	p	p
16	-	+	+	+	ap	ap
17	-	-	-	+	p	ap
18	+	+	=	-	--	ap
19	=	=	=	=	--	--
20	-	-	=	=	--	--
21	+	+	=	=	--	--
22	+	+	-	+	ap	p
23	-	-	+	=	ap	--
24	-	-	-	-	p	p
25	+	+	+	-	p	p
26	-	-	+	+	ap	ap
27	+	+	-	-	ap	ap
28	-	-	-	+	p	ap
29	+	+	+	-	p	ap

4.3.3. T 2/VP 3 (Abb. 33,34)
(ab 8. Tag)

8	-	-	-	=	p	--
9	=	=	+	+	--	--
10	=	=	+	+	--	--
11	+	+	+	+	p	p
12	-	-	-	+	p	ap
13	-	+	-	=	p	--
14	+	+	+	-	p	ap
15	-	-	-	-	p	p
16	-	-	+	+	ap	ap
17	+	+	-	+	ap	p
18	+	+	=	-	--	ap
19	-	-	=	=	--	--
20	-	-	=	=	--	--
21	-	-	=	=	--	--
22	-	-	-	+	p	ap
23	+	+	+	=	p	--
24	+	+	-	-	ap	ap
25	-	+	+	-	ap	p
26	+	+	+	+	p	p
27	-	-	-	-	p	p
28	+	+	-	+	ap	p
29	+	+	+	-	p	ap

Vergleicht man nun die Ergebnisse:

<u>VP 1</u>	LF	Temp.	LF/Temp.
	13	8 p	8 p (5 p:3 ap)
	6	8 ap	7 ap
<u>VP 2</u>	11	5 p	8 p (4 :4)
	8	11 ap	7 ap
<u>VP 3</u>	11	7 p	7 p (5 : 2)
	5	7 ap	6 ap

Bei getrennter Betrachtung fällt auf, daß das Hydroxyprolinverhalten zur Luftfeuchtigkeit eher parallel läuft, wenngleich die gefundenen Werte nicht signifikant sind.

Im Vergleich zur wechselnden Temperatur kann nur bei VP 2 gesagt werden, daß hier ein antiparalleles Verhalten stark überwiegt.

Betrachtet man die Beziehung Luftfeuchtigkeit/Temperatur, das heißt, inwieweit die Hydroxyprolinurie mit beiden Reizarten in Zusammenhang steht, so ist hier keine Signifikanz erkennbar.

4.4. Kurven von T 3

Zwar wurde eingangs betont, daß nur die Kurven interessant sind, die einen Reiz "enthalten", doch soll hier eine kurze Charakteristik der T 3-Kurven folgen.

4.4.1. T 3/VP 1 (Abb. 35)

Mit Ausnahme von Tag 8 - 9 ähneln sich die Kurven der Konzentration und der Menge.

Ausgehend vom Maximum (insbesondere Menge Tag 2) fällt die Kurve anfangs, um mit Beginn der Klima-reize (ab 8) steil anzusteigen. Nach dem 10. Tag fällt sie zunächst und steigt nur langsam an bis 19. 19 - 23 folgt eine Periode Linearen Abfalls. Die letzte Woche ist durch geringe Schwankungen gekennzeichnet.

T3/VP1

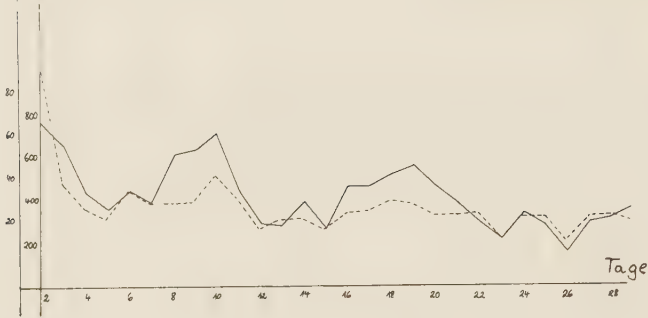


Abb. 35

T3/VP2

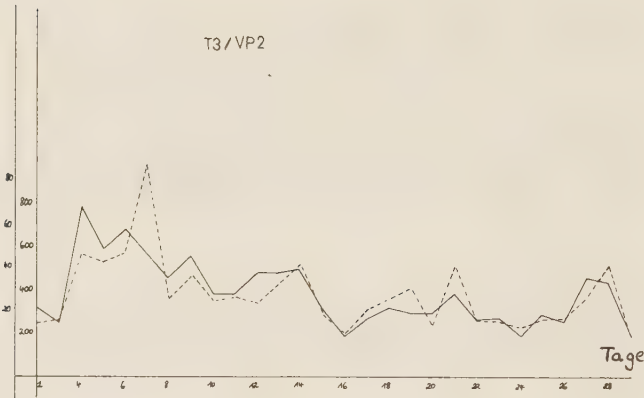


Abb. 36

T3/VP3

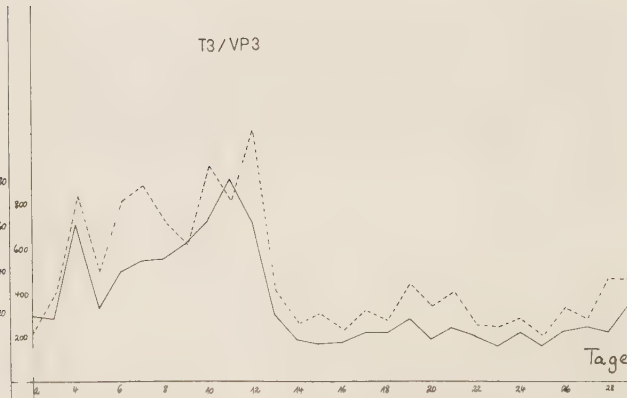


Abb. 37

Abb. 35 - 37: Hydroxyprolin-Menge(---) und -konzentration(—) beim Urinabgabetermin T_3 der Versuchspersonen 1, 2 und 3.

4.2.2. T 3/VP 2 (Abb. 36)

Maxima und Minima liegen im gleichen Bereich wie bei VP 1. Jedoch beginnt bei VP 2 die Kurve auf niedrigerem Niveau, um am Tag 4 ihr echtes Maximum (Konzentration) zu erreichen; während die höchste Exkretionsrate am Tag 7 zu verzeichnen ist. Die Periode 8 - 18 (Klimareize) zeigt schwankende Werte, die am Tag 16 ihr Minimum erreichen. 18 - 22, ohne Reizsituationen, zeigt im Gegensatz zu den ersten Wochen ein niedrigeres Gesamtniveau, das aber auch während der nachfolgenden Klimaperioden bis 26 beibehalten wird. Anschließend nochmaliger Anstieg und Abfall.

4.4.3. T 3/VP 3 (Abb. 37)

Diese Kurve beginnt wie bei VP 2 niedrig, erreicht (ebenso wie bei VP 2) an 4 ihr erstes Maximum; fällt, um dann von 6 - 11, also 6 Tage lang, anzusteigen zum absoluten Maximum. Ein plötzlicher steiler Abfall innerhalb von 2 Tagen führt dann zum absoluten Minimum. Dieses niedrige Niveau wird bis zum Schluß beibehalten.

Die Kurve der Menge unterscheidet sich zwar nur geringfügig von obiger; sie steigt aber nicht so gleichmäßig an. Außerdem ist hier das absolute Maximum einen Tag später, an 12. Dafür fällt die Exkretionsrate um so schneller. Abschließend liegt die Kurve etwas über der der Konzentration, im Gegensatz zu den Kurven von T 1 und teilweise auch T 2 der anderen Versuchspersonen.

5.5. Das Verhalten der Amplituden (Maximaler Tageswert minus minimalem)

5.1. Menge

Berechnet man die tägliche Amplitude jeder Versuchsperson und bildet man dann den Durchschnitt (arithmetisches Mittel) so kommt man zu folgenden Ergebnissen (vgl. die entsprechenden Kurven 38, 39, 40).

Kontrollwoche:	VP 1	:	30,3
(2. - 7. Tag)	VP 2	:	30,9
	VP 3	:	36,3

-64-

mg
Amplitude

Hyp-Mengen-Amplituden

a: Kontrollwoche: Termin 2-7

b: Versuchszeitraum: 8-28

Durchschnitt 30,3

12,3

VP 1

60

40

20

2

4

6

8

10

12

14

16

18

20

22

24

26

28

a

b

Tage

Abb. 38

mg/l

Durchschnitt: 36,3

22,5

VP 3

80

60

40

20

2

4

6

8

10

12

14

16

18

20

22

24

26

28

a

b

Tage

Abb. 39

Durchschnitt: 30,9

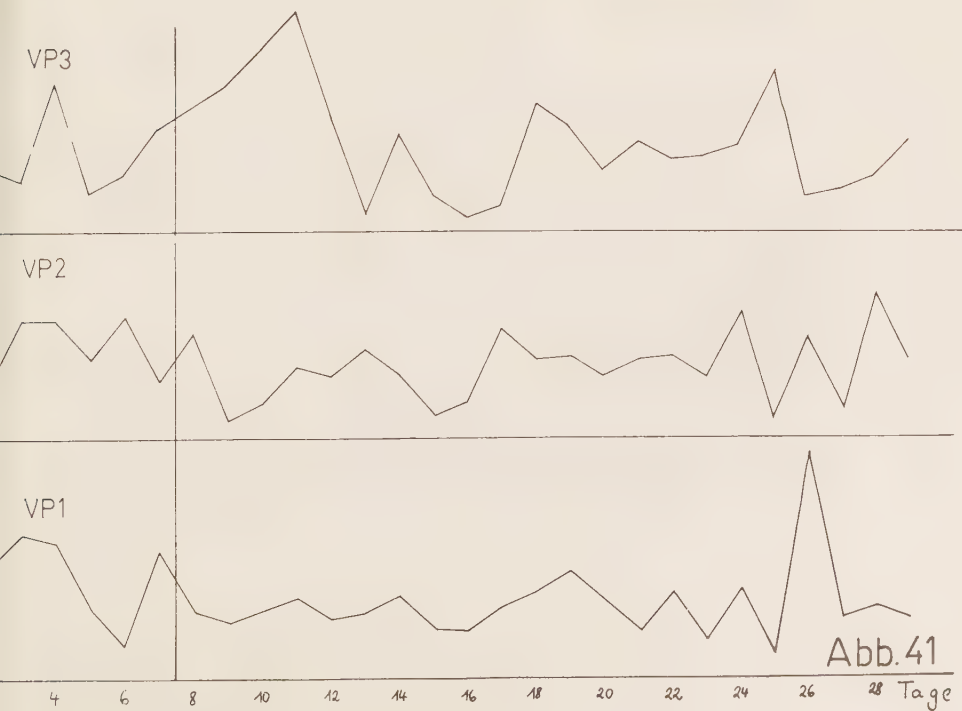
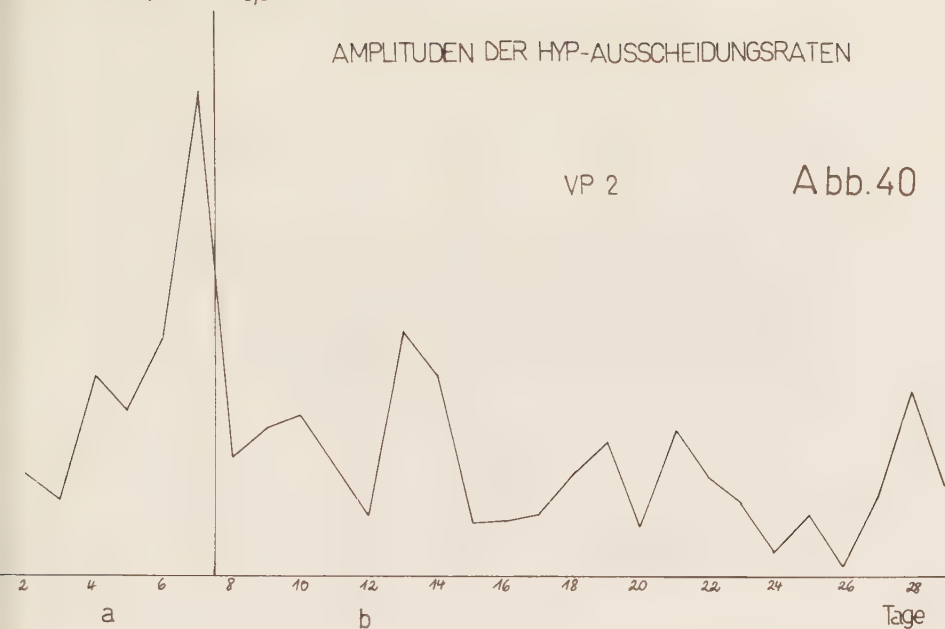
15,5

-65-

AMPLITUDEN DER HYP-AUSSCHIEDUNGSRATEN

VP 2

Abb.40



Versuchszeit: VP 1 : 12,3
(8. - 29.Tag) VP 2 : 15,5
VP 3 : 22,5

Dieser einfache Vergleich zeigt, daß hier ein deutlicher Unterschied zwischen der ersten Woche (Eingewöhnung, keine klimatischen Reize, vielleicht kein Streß, vielleicht aber auch weniger körperliche Beanspruchung) und der sich anschließenden Versuchsperiode vorliegt. Wie sich jedoch zeigt, finden wir die relativ hohen Amplituden nicht mehr während der Zeit des "Nullklimas" vom 18.-21.

Differenziert man das Ergebnis, so folgt:

Amplituden der Hxdroxyprolinmenge an Tagen mit

Feucht-Trocken-Reizen	:	VP 1	:	13,4
(16 Termine)		VP 2	:	14,4
		VP 3	:	26,5
Temperaturreizen	:	VP 1	:	13,3
(16 Termine)		VP 2	:	14,1
		VP 3	:	23,8

5.1.1. Amplitudenverhalten an ausgewählten Terminen.

Die Termine wurden folgendermaßen unterteilt:

Warm: 12, 13, 16, 17, 22, 23, 28;

Kalt: 8, 15, 24, 25;

Feucht: 11, 16, 22, 26, 29;

Trocken: 8, 14, 15, 17, 22, 23, 24, 28;

Feuchtwarm: 16, 22;

Trockenwarm: 13, 17, 22, 23, 24, 28;

Trockenkalt: 8, 15, 24;

Feuchtkalt: kein Termin.

ohne Reize: 2 - 7, 9, 10, 18, 19, 20, 21, 27;

(Es ergeben sich Unterschiede zur späteren Aufteilung nach Urinabgabeterminen, da an einigen Tagen wechselnde klimatische Bedingungen vorherrschten.)

Vergleich:

Erste (Kontroll-) Woche:

	VP 1	:	30,3	(Mittelwerte der Amplitudenwerte $w_{\max} - w_{\min}$)
	VP 2	:	30,9	
	VP 3	:	36,3	
Warm	VP 1	:	7,3	
	VP 2	:	17,1	
	VP 3	:	20,6	
Kalt:	VP 1	:	12,0	
	VP 2	:	9,6	
	VP 3	:	22,0	
Feucht:	VP 1	:	18,2	
	VP 2	:	10,5	
	VP 3	:	20,8	
Trocken:	VP 1	:	10,1	
	VP 2	:	15,3	
	VP 3	:	15,1	
Feuchtwarm:	VP 1	:	9,2	
	VP 2	:	11,7	
	VP 3	:	4,0	
Trockenwarm:	VP 1	:	8,7	
	VP 2	:	19,8	
	VP 3	:	11,3	
Trockenkalt:	VP 1	:	10,9	
	VP 2	:	9,8	
	VP 3	:	22,0	

5.2. Tagesamplituden: Konzentration Hydroxyprolin (Abb. 41)

Kontrollwoche:	VP 1	:	304
	VP 2	:	271
	VP 3	:	230
Versuchszeit:	VP 1	:	244
	VP 2	:	210
	VP 3	:	271
Warm:	VP 1	:	185
	VP 2	:	247
	VP 3	:	164
Kalt:	VP 1	:	172
	VP 2	:	204
	VP 3	:	305

Feucht:	VP 1	:	321
	VP 2	:	218
	VP 3	:	259
Trocken:	VP 1	:	204
	VP 2	:	262
	VP 3	:	216
Feuchtwarm:	VP 1	:	199
	VP 2	:	182
	VP 3	:	134
Trockenwarm:	VP 1	:	194
	VP 2	:	286
	VP 3	:	151
Trockenkalt:	VP 1	:	203
	VP 2	:	251
	VP 3	:	250
Termine ohne	VP 1	:	256
Reize:	VP 2	:	208
	VP 3	:	273

Ergebnis: VP 1 : Höchster Wert: feucht;
niedrigster: kalt;
Differenz: 149

VP 2 : Höchste- Wert: trockenwarm;
niedrigster: feuchtwarm;
Differenz: 104

VP 3 : Höchster Wert: kalt
niedrigster: feuchtwarm;
Differenz: 171

6 Verhalten der (arithmet.) Mittelwerte an
ausgewählten Terminen

Zwar hatte der Vergleich der Amplituden zwischen Kontrollwoche und nachfolgender Versuchszeit einen deutlichen Unterschied erkennen lassen, doch scheint die Aufteilung nach verschiedenen klimatischen Bedingungen keine neuen Erkenntnisse zu bringen. Trotzdem möchte ich mit diesem System die einzelnen T 1, T 2 und T 3 Werte dahingehend untersuchen, daß ich die Durchschnittswerte der Tage nehme, die gleiche klimatische Bedingungen aufweisen. (vgl. Schema)

Ergebnis: (Mittelwerte der Amplitude $w_{\max} - w_{\min}$)

<u>T 1</u>						
<u>Luftfeuchtigk.</u>	VP 1		VP 2		VP 3	
	Menge	Konz.	Menge	Konz.	Menge	Konz.
Tage ohne LF	19,41	514	20,10	424	17,66	367
Tage mit LF	15,59	433	14,92	405	16,45	362
Feuchte Tage	15,77	482	16,83	418	14,25	371
Trockene Tage	16,50	465	15,10	455	15,02	322
<u>Temperatur</u>						
Tage ohne Temp.	18,61	431	15,18	398	17,70	358
Tage mit Temp.	16,61	446	15,30	429	17,17	371
Warme Tage	19,07	480	17,55	473	14,99	367
Kalte Tage	15,53	416	13,23	372	17,23	339

<u>T 2</u>						
<u>Luftfeuchtigk.</u>						
Tage ohne LF	29,41	549	25,91	446	26,40	418
Tage mit LF	28,77	461	22,68	346	18,36	296
Feuchte Tage	29,31	571	21,95	300	22,30	319
Trockene Tage	26,85	455	23,00	339	16,68	262
<u>Temperatur</u>						
Tage ohne Temp.	29,61	553	24,81	418	21,93	390
Tage mit Temp.	23,10	439	21,55	350	17,49	297
Warme Tage	23,31	400	30,73	380	16,64	291
Kalte Tage	16,58	302	18,33	305	22,21	271

<u>T 3</u>						
<u>Luftfeuchtigk.</u>						
Tage ohne LF	30,42	447	32,02	417	37,96	342
Tage mit LF	23,23	384	23,52	349	38,42	368
<u>Temperatur</u>						
Tage ohne Temp.	32,69	484	34,71	443	41,05	363
Tage mit Temp.	22,43	363	22,56	337	36,06	348

Ergebnis: VP 1:

Auffällig, daß die Durchschnittswerte von T 1 am niedrigsten, die von T 3 am höchsten sind. Weiterhin auffällig, daß bei allen drei Terminen die Werte für die Tage mit Feuchtigkeitsreizen unter denen der Tage, die keine Reize enthalten, liegen. Sinngemäß gilt das gleiche für das Verhalten bzgl. Temperaturreizen. (Kalt!)

VP 2:

Auch hier ist deutlich, daß an Tagen mit Klimareizbedingungen durchschnittlich mehr Hydroxyprolin ausgeschieden wurde als an den übrigen. Auch die Konzentration verhält sich analog. Wie bei VP 1 bringt die Unterteilung nach der Art der Reize nicht allzuviel. Denn man weiß nicht, inwieweit man das Ergebnis, daß an kalten Tagen die niedrigsten Werte überhaupt gefunden wurden, bewerten darf.

VP 3:

Die Werte an Tagen mit klimatischen Reizsituationen sind geringfügig niedriger als die von Tagen mit "Klima". Jedoch ist die Differenz nicht so groß wie bei den anderen beiden Versuchspersonen. Außerdem finden sich im T 3-Urin an Tagen mit Luftfeuchtigkeit etwas höhere Ausscheidungsraten als an den übrigen Tagen. Betrachtet man die Werte für die gemessene Konzentration an den verschiedenen Terminen, so kann man bei T 1 kaum Unterschiede finden. Bei T 2 sind die Differenzen beträchtlicher. T 3 wiederum läßt ebenfalls kaum nennenswerte Aussagen zu.

7 Vorläufiges Gesamtergebnis

Vergleicht man die erste Woche getrennt mit den darauffolgenden drei Wochen, so fällt nur die hohe Amplitudenrate auf, die in dieser ersten Woche gemessen wurde.

Diese Amplitudenwerte nehmen dann ab und bleiben an allen übrigen Terminen (ob kalt-warm, trocken-feucht) ziemlich konstant. Ein Vergleich der arithmetischen Mittelwerte der einzelnen Urinabgabetermine zeigt kaum nennenswerte Bevorzugung irgendeiner Situation während der gesamten Versuchszeit.

8 Diskussion

81 Diskussion der Methode

Um Hydroxyprolin im Autoanalyzer zuverlässig bestimmen zu können, müssen gleichbleibende Bedingungen gewährleistet sein in Bezug auf die zeitliche Dauer der einzelnen Reaktionsabläufe, konstante Mengen von Reagentien, deren Reinheit, die Fließgeschwindigkeit und Trennung der einzelnen Proben. Hierbei kommt vor allem der Beschaffenheit der Pumpe und den verwendeten Schläuchen große Bedeutung zu.

Die Reaktion beginnt mit der im Abschnitt 41 beschriebenen Oxidation. Sie darf nicht beliebig lange andauern, sondern muß mit einem Reduktionsmittel gestoppt werden. Die Zeit ist von der Pumpengeschwindigkeit und der Baulänge der Spiralen abhängig.

Da die Reduktionsmittel Eisensulfat, Natriumthiosulfat und Perchlorsäure zur Präzipitatbildung neigen, verwendete ich anfangs Natriumbisulfit. Später nahm ich Natriumsulfit $\cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$.

Schwierigkeiten hat man bei der Verwendung des p-Dimethylaminobenzaldehyd. Seine Reinheit ist von ausschlaggebender Bedeutung. Die Zusammensetzung der Lösung wurde wie im Abschnitt 413 angegeben abgeändert und ergab bessere Resultate.

Die Autoanalyzer-Methode, Hydroxyprolin mit einer Farbreaktion mit p-DBA quantitativ zu bestimmen, ist in der Literatur beschrieben. Sie bringt je-

doch einige Probleme mit sich. Die Standardlösungen brachten wohl die erwarteten Resultate. Doch war die Ausbeute von Hydroxyprolin im Urin nie 100 %ig. Ich habe einige der vielen veränderlichen Größen in der Reaktionsfolge abgeändert, doch kamen nur kleine Verbesserungen. Inwieweit die Methode selbst, vielleicht auch ein "Einpendeln der Reaktion", das Gesamtergebnis beeinflussen, bleibt also offen; kann aber nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Die Analyse der zu untersuchenden Urinproben wurde ohne Unterbrechungen durchgeführt, um Störungen der chemischen Reaktion möglichst auszuschalten.

82 Diskussion der Hydrolyse

Es scheint daher angezeigt, Fehler nicht nur in der Bestimmungsmethode zu suchen, sondern auch in der Probenaufbereitung der Hydrolyse. Es hat sich gezeigt, daß die vielen Angaben zur Hydrolyse nicht so optimistisch gewertet werden durften (DREUX (7), (8), KREYSEL (29), PAREKH (38), PROCKOP (42), SEYMOUR (53)).

Bei Verwendung eines "internen Standards" (Abschn. 422) im Urin ergab sich stets ein Ausbeuteverlust. Ähnlich verhielten sich auch Urinproben, denen nach der Hydrolyse Hydroxyprolin zugefügt wurde. Da sich aber die Urinproben in der Hydroxyprolin-ausbeute gleichmäßig verhielten, und somit nur im Vergleich zu reinen Standardlösungen obiges Verhalten zeigten, wurden diese Hydrolysebedingungen beibehalten.

Aus diesen Resultaten ergibt sich zwangsläufig, daß die gefundenen Hydroxyprolinmengen nicht unbedingt als 100 %ige Werte anzusehen sind. Vielmehr müßte man alle vorliegenden Werte mit einem konstanten Faktor multiplizieren. Da bei der halbquantitativen Darstellung absolute Größen sowieso unterschlagen werden, begnügte ich mich mit den vorliegenden Zahlen und sah in ihnen reine Vergleichswerte.

Für zukünftige Versuche würde ich den Einsatz von "Entfärbern" wie Aktivkohle oder Säuren anraten. Vielleicht sollte man entweder die Hydrolyse anders durchführen oder aber den Fehler im nicht genügend vorbereiteten Urin suchen.

83 Diskussion der Ergebnisse

Für die Beurteilung des Knochenstoffwechsels ist in letzter Zeit der Nachweis der organischen Mataboliten in den Vordergrund gerückt. Im Vordergrund steht die Ausscheidung von Hydroxyprolin, der für das Kollagen spezifischen Aminosäure. Der Grad der Hydroxyprolinurie ergibt einen direkten Hinweis auf den Kollagenumsatz; es besteht ein guter Zusammenhang zwischen der Höhe der alkalischen Phosphate im Blut und der Hydroxyprolinausscheidung (SCHOEN (52)). Im vorliegenden Fall interessiert nun im engeren Sinn das Vorhandensein oder auch das Nichtvorhandensein einer Abhängigkeit: klimatische Faktoren - Hydroxyprolinurie oder weiter: Klima - Bindegewebsstoffwechsel.

Für den Beweis einer derartigen Abhängigkeit ist neben der statistischen Signifikanz der gefundenen Werte folgendes zu beachten

1. Die Frequenz und Geschwindigkeit des Klimawechsels;
2. die Intensität des Klimawechsels;
3. die Phasendauer;
4. die individuelle Reaktion, die zusätzlich durch Adaptionsmechanismen, Eigenrhythmus und bei Erkrankung durch Änderung der Reizschwelle verändert wird.

Zu 1: Durch den Versuchsaufbau bestimmt, war die Frequenz des Klimawechsels unterschiedlich. Meist veränderten sich die klimatischen Bedingungen während eines Tages nur einmal. Im gesamten KK 3 wechselte die Temperatur an 19 von 28 Tagen; die Luftfeuchtigkeit an 17 von 28 Tagen.

Zu 2: Die Intensität läßt sich an der Steigerung der Klimakurven ablesen. Man erkennt, daß der Klimawechsel pro Zeiteinheit nicht immer gleichmäßig durchgeführt wurde. Die Schwierigkeit, starke und schwache Schwankungen gleichermaßen zu berücksichtigen, führte zur willkürlichen Grenze nach unten, wobei manche klimatischen Reizsetzungen also unberücksichtigt blieben. (s.S.32, Kap.512)

Zu 3: Die Phasendauer, d.h. die Zeit gleicher klimatischer Bedingungen, betrug jeweils nur einen Turn. Nur an sechs einzelnen Tagen dauerte sie länger.

Zu 4: Die individuelle Reaktion bleibt sicher die größte Unbekannte. Wir haben es mit drei Versuchspersonen zu tun, die dahingehend ausgesucht worden waren, daß sie fast gleichaltrig, jung und gesund waren, von ähnlicher Konstitution und daß sie gleiche Interessen hatten.

Die Zahl der Versuchspersonen ist mit drei sicher zu gering, um neben andren Fehlermöglichkeiten zu sicheren Ergebnissen zu kommen. Doch dürfte der notwendige Aufwand für Klimakammerversuche eine größere Anzahl an Versuchspersonen unmöglich erscheinen lassen. Vielleicht ist auch die Versuchsdauer bzw. Beobachtungsdauer zu kurz.

Über die individuelle Reaktion kann man aber vielleicht doch etwas sagen, wenn man die Zusammenhänge der Versuchspersonen untersucht. Mit zwei Ausnahmen (S. 43/44) war die Übereinstimmung zwischen VP 1 und VP 2 die beste. Es folgt die Übereinstimmung zwischen VP 1 und VP 3, während die Übereinstimmung zwischen VP 2 und VP 3 die schlechteste war. Nimmt man nicht die Übereinstimmung in Bezug auf das Parallel- oder Antiparallelverhalten, sondern die einfachen unveränderten Werte der Ausscheidungsraten und der Konzentration (Mittelwerte wie o.a.), so sieht es folgendermaßen aus:

Durchschnittswerte der Konzentration:

VP 1 : 460; VP 2 : 393; VP 3 : 354;

Absolute Schwankungen: 138 - 926. Man sieht, daß sich die Versuchspersonen auf fast gleichem Niveau halten.

Durchschnittswerte der Ausscheidungsrate:

VP 1: 67,02 mg/Tag; VP 2: 66,06 mg/Tag; VP 3: 97,32 mg/Tag

Im einzelnen fällt beim Verhalten der Zusammenhänge noch folgendes auf:

Während der Kontrollwoche haben die drei Versuchspersonen bezogen auf T 2 ihre größte Übereinstimmung mit 40 %. Bezogen auf T 1 jedoch, ist die Übereinstimmung in diesem Zeitraum am geringsten: 0 - 20 %.

Die Übereinstimmung zwischen VP 1 und VP 2 an Tagen mit Temperaturreizen betrug bei T 1 82 % und an Tagen mit Feuchtigkeitsreizen 80 %.

Ob man mit diesen stark vereinfachten Zahlen zu einem Schluß kommen kann, ist fraglich. Es scheint die Annahme gerechtfertigt, daß sich die individuelle Reaktion der drei Versuchspersonen nicht allzusehr unterscheidet.

Als nächstes habe ich die durchschnittliche Ausscheidung und Konzentration untersucht, ebenso das Amplitudenverhalten. Hier fällt nur auf, daß ein Unterschied zwischen der Kontrollwoche und der nachfolgenden Versuchszeit beim Vergleich der arithmetischen Mittelwerte deutlich wird. Eine Bevorzugung irgendeiner Situation während der gesamten Versuchszeit tritt nicht auf; die Amplitudenwerte bleiben jedoch während der Versuchszeit 8 - 28 ziemlich konstant. Man könnte an eine Gewöhnung der Probanden denken. Der Faktor Gewöhnung darf bei Überlegungen bezüglich des Klimas nicht unterschätzt werden. Die klimatischen Bedingungen während des KK 3 waren - den Aussagen der Versuchspersonen zufolge - ohne Besonderheiten. Es handelte sich um Klimawerte, wie sie in unseren Breiten oft vorkommen und die der Körper der Versuchspersonen schon "kannte".

Weitere Fragen ergeben sich daraus, ob und inwieweit körperliche Anstrengungen (z.B. Übungen am Fahrradergometer) und Muskelarbeit sich auf den Bindegewebsstoffwechsel übertragen und somit das Ergebnis - gleichmäßig - beeinflussen können (vgl. DABELS (6)).

Am unsichersten bin ich jedoch, ob man es rechtfertigen kann, bei der Auswertung der Urindaten von der Behauptung auszugehen, daß sich der "Reiz" jeweils nur auf den nachfolgenden Urinabgabetermin auswirke.

Ich konnte leider in der Literatur keine Hinweise finden, die die Geschwindigkeit der Umsetzung eines Reizes auf den Hydroxyprolinstoffwechsel behandeln. Man könnte ja - bei dem relativ langsamen Bindegewebsstoffwechsel - durchaus auch annehmen, daß ein Reiz auch noch mehrere Stunden lang bis zu mehreren Tagen nach Reizsetzung wirkt. Das müßte aber bei der o.a. Frequenz des Klimawechsels zu unüberschaubaren Überschneidungen geführt haben.

Gerade bei der terminbezogenen Auswertung ist es schwer, eine tatsächliche Trennung der Warm-Kalt-Reize von den Trocken-Feucht-Reizen zu treffen.

Ebenso muß der Einfluß der zugeführten Mahlzeiten (EMMRICH (12)) auf das Verhalten der Hydroxyprolinexkretion zur Diskussion gestellt werden. Um ihn gering zu halten, wurde den Probanden eine kollagenarme Kost gegeben, die während der gesamten Versuchsdauer gleich blieb. Überdies wurde bereits der Urin T 4, also nach dem Mittagessen, verworfen, um hiermit nahrungsmäßige Einflüsse soweit wie möglich auszuschalten. Vielleicht ist in der Umstellung der Essensgewohnheiten und der von Anfang an geringen Kollagenzufuhr eine Ursache zu suchen, daß die Versuchspersonen während der ersten Woche höhere Amplituden aufweisen als in der darauffolgenden Zeit.

Bleibt der Einfluß zu erwähnen, den der psychische Stress auf das Hydroxyprolinverhalten hat. Von einer Stresssituation kann man ja sicher sprechen, wenn man bedenkt, daß der Aufenthalt in der Klimakammer nicht alltäglich ist, und daß sich die Versuchspersonen - die sich zwar schon vorher kannten - dreißig Tage lang zusammen aufhalten mußten. In der Literatur gibt es verschiedene Angaben: Stress und körperliche Belastungen (teils nicht voneinander zu trennen) sollen eine verminderte Ausscheidung des gebundenen Hydroxyprolins zur Folge haben (EMMRICH (12)). PEREYRA (39) hingegen fand eine Erhöhung der Hydroxyprolinmenge nach operativen Eingriffen, die er unter dem Begriff "Surgical Stress" erwähnt. Er fand bei einem Teil seines Untersuchungsgutes jedoch vor der Operation erniedrigte Werte (Psychologischer Stress?).

Weiterhin wird in der Literatur die tägliche Hydroxyprolinausscheidung des gesunden Menschen als konstant bezeichnet. Dies können die vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigen. Die tägliche Rate schwankt zwischen:

VP 1 :	
31,03-133,51 mg/Tag bzw.	$2,37 \cdot 10^{-4}$ - $1,02 \cdot 10^{-3}$ Mol/Tag
VP 2 :	
34,66-134,54 mg/Tag	$2,66 \cdot 10^{-4}$ - $1,03 \cdot 10^{-3}$ Mol/Tag
VP 3 :	
44,56-187,16 mg/Tag	$3,40 \cdot 10^{-4}$ - $1,43 \cdot 10^{-3}$ Mol/Tag

(siehe Abb. 42)

An dieser Stelle der Diskussion sollte man aber auch daran denken, daß die Deutung der Hydroxyprolinausscheidung insgesamt schwierig ist:

1. Das Knochenkollagen hat einen fünfmal schnelleren Umsatz als das Bindegewebskollagen. In der Regel entstammen 80 % der Hydroxyprolinausscheidung dem Knochenkollagen und nur 20 % dem Bindegewebe. (DABELS (6)) Bei PROCKOP (45) heißt es, daß relativ große Veränderungen im Knochenmetabolismus vorsich gehen müssen, um die Hydroxyprolinausscheidungsgeschwindigkeit zu ändern.

2. Die Urin-Hydroxyprolinmenge kann von der Norm abweichen, wenn sich der Pool der verschiedenen löslichen Kollagenformen ändert, wenn die Umwandlungsrate der einen in die andere Form von der Norm abweicht, wenn die Degradation der verschiedenen Kollagenformen beschleunigt oder verlangsamt ist (LITTLE (32)).

3. Wahrscheinlich kann die Menge ausgeschiedenen Hydroxyprolins auch durch eine herabgesetzte oder erhöhte Umwandlung von freiem und peptidgebundenem Hydroxyprolin in CO_2 und Harnstoff vermehrt sein.

Es müssen alle diese Einflüsse ausgeschlossen sein, wenn man von einer isolierten Beeinflussung der Hydroxyprolinausscheidung durch klimatische Faktoren sprechen will.

Abschließend möchte ich noch auf Untersuchungen verweisen, die - unter einem anderen Aspekt betrachtet - SULMAN (57) über Einflüsse komplexer Wettergeschehen machte. Er beschreibt z.B. drei Typen der Sharav-Reaktion, als dritte nennt er die "Hyperthyreose", forme fruste, die 13 % seiner Fälle mit erhöhten Urinbefunden (Serotonin, HIEE, Na, K, Kreatinin und Histamin) stellt. Da es einen Zusammenhang Hydroxyprolinurie-Hyperthyreose gibt, könnte man Anknüpfungspunkte suchen. Der Unterschied besteht aber vor allem darin, daß die Probanden im KK 3 gesunde Menschen waren, und daß es hier um die Untersuchung von zwei ganz genau definierten Wetterfaktoren ging. SULMAN dagegen untersuchte Patienten, die am komplexen Geschehen des Chamssins = Sharav (Hitze!) litten, und somit von vornherein pathologische Werte zeigten.

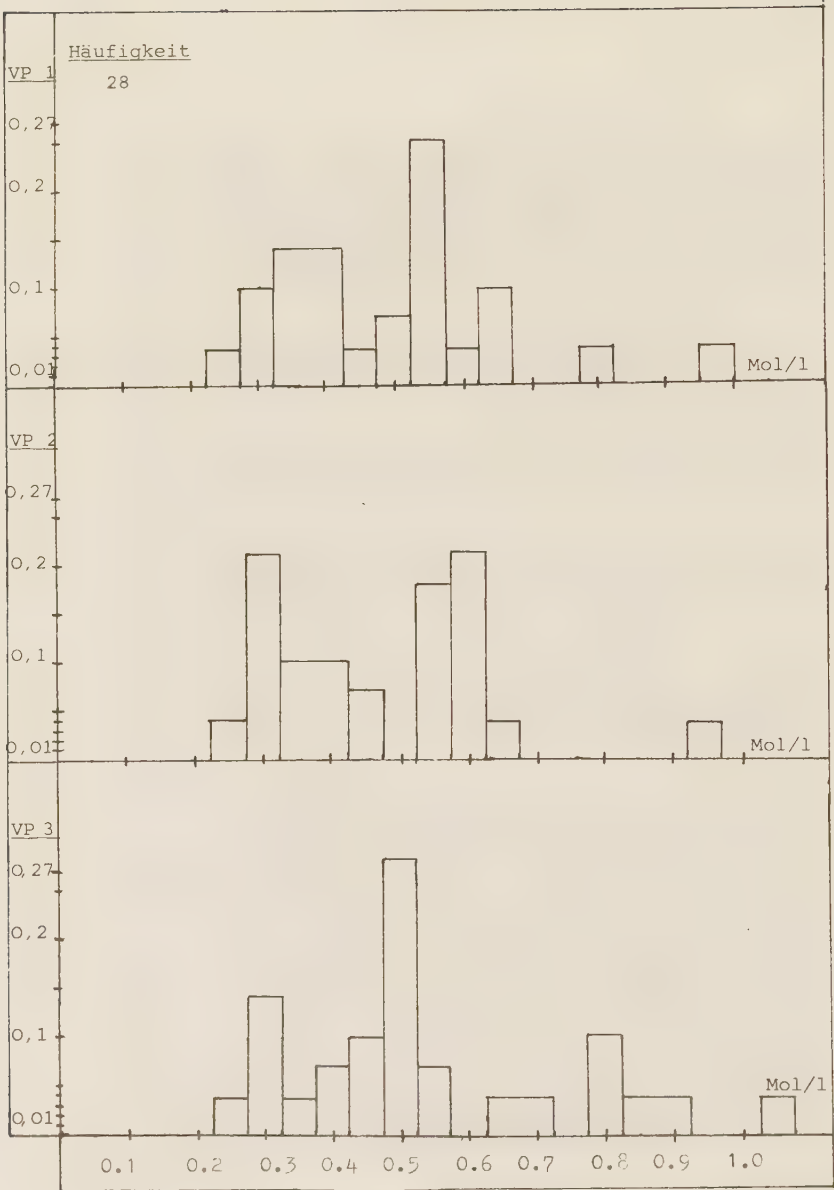


Abb. 42 Verteilung der Ausscheidungswerte in Mol/l während des KK 3

9 Zusammenfassung

1. Es geht um die Frage: Kann man aufgrund der vorliegenden Werte der Hydroxyprolinausscheidung von einem konkreten Zusammenhang zwischen den Veränderungen der Luftfeuchtigkeit und -temperatur einerseits und dem Hydroxyprolinstoffwechsel andererseits sprechen?
2. Dazu wurden im Langzeitversuch KK 3 drei Probanden, die einem vorgegebenen Versuchsablauf unterworfen waren, 3mal täglich über 29 Tage hinweg untersucht.
3. a) Zur Bestimmung des ausgeschiedenen Hydroxyprolins wurde von mir zuerst die von DREUX (8) vorgestellte Methode zur automatischen Bestimmung des Hydroxyprolins überprüft und in einigen Details verändert.
b) Es stellte sich die stark begrenzte Haltbarkeit von Eichlösungen mit einem Gehalt von weniger als 100 mg Hydroxyprolin/ LH_2O heraus.
c) Bezüglich der Hydrolyse kam ich zur Überzeugung, daß die Angaben in der Literatur über die zu erzielende Ausbeute sich nicht vollständig verwirklichen ließen.
4. a) Die eigentliche Auswertung der gefundenen Daten über die Hydroxyprolinurie der drei Probanden brachte die Überzeugung, daß ein Gewöhnungsprozeß bei den Versuchspersonen eingetreten sein muß.
b) Insbesondere zeigt der Vergleich der arithmetischen Mittelwerte einen Unterschied zwischen Kontrollwoche und anschließender Versuchszeit. Die Werte sind in der anfänglichen Kontrollwoche ziemlich hoch und bleiben dann, in der Versuchszeit, konstant niedrig, ohne eine Bevorzugung irgendeiner Situation erkennen zu lassen.
c) Bei den drei Probanden konnte das Vorliegen einer Tagesperiodik bezüglich der Hydroxyprolinurie nicht bewiesen werden.
d) Die in der Literatur angegebene Konstanz der täglichen Ausscheidung konnte ich ebenfalls nicht bestätigen;

die Werte schwanken zwischen:

	Standardabweichung
VP 1: 31,03 - 133,51 mg/Tag	22,31 mg/Tag
VP 2: 34,88 - 134,54 mg/Tag	20,69 mg/Tag
VP 3: 44,56 - 137,16 mg/Tag	35,28 mg/Tag

Das Ergebnis scheint deshalb interessant, weil bisher keinerlei Untersuchungen an gesunden Probanden über einen derart langen, zusammenhängenden Zeitraum unter standardisierten Bedingungen durchgeführt wurden.

e) Somit konnte keine direkte Abhängigkeit des Hydroxyprolinstoffwechsels von klimatischen Faktoren nachgewiesen werden.

f) Es bleibt auch die Frage offen, inwieweit Einflüsse anderer Genese als die klimatischen, direkt oder indirekt die gefundenen Werte mitbeeinflusst haben (Psyche, individuelle Unterschiede, gleichartige kollagenarme Nahrung, Stress, körperliche Anstrengungen und vor allem die angewandte Methodik).

10 Literaturverzeichnis

- (1) ASCHOFF, J. Circadian rhythmus in man.
Science
148: (1965) 1427 - 1432
- (2) BATES, William K.
Influence of the parathyroids
on plasma hydroxyprolin levels.
Endocrinology 71: 189 - 195, 1962
- (3) BENOIT, F. L. Hydroxyproline excretion in
endocrine disease.
Metabolism 12: 1072, 1963
- (4) CHESTER, W., Fink
Effect of hyperthyroidism and
hypothyroidism on collagen
metabolism.
J. Lab. & Clin. Med. 69/6:
950 - 959, 1967
- (5) CZITOBER, H., RAAB, W.
Hydroxyprolin bei generali-
sierten Knochenerkrankungen.
Dtsch. med. Wschr. 21,
857 - 864, 1970
- (6) DABELS, J., REHPENNIG, W.
Zum Wert der Hydroxyprolin-
bestimmung in der klinischen
Diagnostik.
Dtsch. Ges.wesen. 26/51:
2403 - 2405, 1971
- (7) DREUX, C., FIET, J., DAKKAK, R.
L'hydroxyproline libre et
peptidique issue des collagenes.
Dermatologie biologique 529-532
- (8) DREUX, C., LEYMARIE, J.
Dosage automatique de l'hydro-
xyproline urinaire.
Ann. Biol. Clin. 26: 641-650, 1968
- (9) DULL, T.A. Urinary hydroxyproline as an
index of collagen turnover in
bone.
New England J. med. 268: 132, 1963

- (10) DULL, A., HENNEMAN, H.
Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bone.
New England J. Med. 268/3, 132 - 134, 1963
- (11) EBERHAGEN, D. Bedeutung der Hydroxyprolin-ausscheidung.
Med. Klin. 68: 1342 - 1344, 1973
- (12) EMMRICH, R. Die klinische Bedeutung der Hydroxyprolinausscheidung im Harn.
Zeitschr. Inn. Med. 22/7: 193 - 198, 1967
- (13) GILLMANN, H. Physikalische Therapie S.117
Verlag G. Thieme, Stuttgart 1972
- (14) GOTTLIEB, A. A. Use of collagenase to identify enzymatically formed collagen and a hydroxyproline-deficient intermediate.
J. biol. Chem. 240: 3099, 1965
- (15) HADDAD, J. G., COURANZ, S. Nondialyzable Urinary Hydroxyproline as an Index of Bone Collagen Formation.
J. Clin. Endocrinol. Metabol. 30: 282 - 287, 1970
- (16) HEBEL, P. Elektrolyt-Ausscheidung im Harn in Abhängigkeit von thermohygrischen Reizen während eines vierwöchigen Aufenthaltes im kontrollierten Klima.
Dissertation 1975
- (17) HESCH, R., BRAUN, J.S., BANZER, D. Ausscheidung von Hydroxyprolin, Kalzium, Phosphor und Magnesium im Harn bei chronischen Hepatiden.
Acta Hepato-Gastroenterol. 19: 224 - 233, 1972

- (18) HURYCH, J.M. Influence of chelating agents on the biosynthesis of collagen. Biochim. biophys. Acts (Amsterdam) 97: 361, 1965
- (19) JOHNSTON, C. C., DEISS, W. Some effects of hypohysectomie and parathyroid extract on bone matrix biosynthesis. Endocrinol. 76: 198, 1965
- (20) JUVA, K., PROCKOP Puromycin inhibition of collagen sythesis as evidence for a ribosomal or postribosomal site for the hydroxylation of prolines. Biochim. biophys. acta (Amsterdam) 91: 174, 1964
- (21) KAKAC, B. Colorimetrie, 1962 Jena
- (22) KEISER, H. R., SJOERDSMA, A. Effect of thyroid hormone on collagen metabolism. J. klin. Invest. 41, 1371, 1962
- (23) KEISER, H. R., GILL, J. R. Relation between urinary hydroxyproline and parathyroid function. J. clin. Invest. 43: 1073, 1964
- (24) KIVIRIKKO, K. J., KOIVUSALO, M. Effect of thyroxine on the hydroxyproline in rat urine and skin. Acta physiol. scand. 57: 462, 1963
- (25) KIVIRIKKO, K.J. Further studies on the action of thyroid hormones on the metabolism of collagen. Acta physiol. scand. 61: 49, 1964
- (26) KIVIRIKKO, K.J. Hydroxyproline in the serum and urine of patients with hyperparathyreoidismus. J. clin. Endocr. 24: 222, 1964
- (27) KIVIRIKKO, K.J. Metabolism of collagen in experimental hyperthyroidism and hypothyroidism in the rat. Endocrinol. 80: 1051, 1967

- (28) KOPECKY, A. Einfluß von Wachstumshormon auf die Hydroxyprolinurie bei Patienten mit hypophysärem Minderwuchs. Endocrinol. 57/1: 194-199, 1970
- (29) KREYSEL, H.W. Die klinische Bedeutung der Hydroxyprolinausscheidung im Urin. Med. Welt 24, 43: 1654-1658, 1973
- (30) LAITINEN, O., NIKKILÄ, E.A. Hydroxyproline in the Serum and Urine. Acta med. scand. 179: 275 - 283, 1966
- (31) LANGNESS, U. Hydroxyprolinbestimmung im Urin zur Funktionsdiagnostik der Schilddrüse. Med. Klin. 64: 1111-1113, 1969
- (32) LITTLE, A.M., RUMMEL, J.A. Circadian variations in thermal and metabolic responses to heat exposure. J. Applied Physiol. 31/4: 556-560, 1971
- (33) LUKENS, L.N. Evidence for the nature of the precursor that is hydroxylated during the biosynthesis of collagen hydroxyprolin. J. Biol. Chem. 240: 1661, 1965
- (34) MAUTALEN, C.A. Total Urinary Hydroxyproline Excretion after Administration of Vitamin D to Patients with Hypoparathyroidism. J. Clin. Endocrinol. Metabol. 31: 595 - 599, 1970
- (35) MAUTALEN, C.A. Circadian Rhythm of urinary total and free hydroxyproline excretion and its relation to creatine excretion. J. Lab. Clin. Med. 75: 11 - 18, 1970 Jan.

- (37) MITOMA, C., SMITH, E. et alii
Improvements in methods for
measuring hydroxyproline.
J. Lab. & Clin. Med. 53, 6:
970 - 976, 1959 June
- (38) PAREKH, A.C., JUNG, D.H.
An improved method for deter-
mination of total hydroxypro-
line in urine.
Biochem. Med. 4: 446-456, 1970
- (39) PEREYRA, B. Urinary Excretion of Hydroxy-
proline and Proline during
Surgical Stress.
Am. J. of Surgery 115, 777,
781, 1968
- (40) PETERKOFKY, B., UDENFRIEND, S.
Conversion of proline to
collagen hydroxyproline in
a cell-free system from
chick embryo.
J. biol. Chem. 238: 3966, 1963
- (41) PETERKOFKY, B. Conversion of proline-C¹⁴ to
peptide bound hydroxyproline-C¹⁴
in a cell free system from
chick embryo.
Res. commun. 6: 184, 1961
- (42) PROCKOP, D.J., UDENFRIEND, S.
A specific method for the
analysis of hydroxyproline
in tissues and urine.
Analytical Biochem. 1:
228 - 239, 1960
- (43) PROCKOP, D.J. Studies on the intracellular
localization of collagen syn-
thesis in the intact chick
embryo.
J. biol. Chem. 237: 1581, 1962
- (44) PROCKOP, D.J., SJOERSDMA
J. clin. Invest. 40: 843-849, 1961
- (45) PROCKOP, D.J., KIVIRIKKO
Relationship of Hydroxypro-
line in urine to collagen
metabolism.
Ann. Int. med. 66/6: 1243-1266, 1967

- (46) QUENTON, T., SMITH, RUKAVINA, J.G.
Urinary hydroxyproline in
various diseases.
Acta dermatovener. (Stock-
holm) 45: 44 - 49, 1965
- (47) RAAB, W. Die Hydroxyprolinausscheidung
im Harn beim rheumatischen
Geschehen und bei antirheu-
matischer Behandlung.
Clin. Chem. Acta 44: 85 93, 1973
- (48) RADOM, S. Circadian Rhythm of total
urinary hydroxyproline test.
Clin. Chim. Acta 39:
277 - 278, 1972
- (49) REHPENNIG, W., DABELS, J.
Zur Bestimmung von Hydroxy-
prolin im Harn.
Z. med. Labortechn. 13:
183 - 186, 1972
- (50) ROMMEL, K., ROURIE, L., BÖHM, W.
Kollagenmetabolismus bei
Hyperthyreose.
Med. Klin. 63: 410-413. 1968
- (51) RUIZ-TORRES, A. Klinische Bedeutung der Be-
stimmung der Hydroxyprolinurie.
Med. Welt 40: 2176-2180,
1969 Oktober
- (52) SCHOEN, R. (Hrsgb.)
Der Rheumatismus
Steinkopf-Verlag, Darmstadt, 1966
- (53) SEYMOUR, G.C., JACKSON, M.J.
Specific automated method
for measurement of urinary
hydroxyproline.
Clin. Chem. 20/5: 544-546, 1974
- (54) SMITH, R. Total hydroxyproline excre-
tion during prolonged star-
vation for obesity.
Clin.Chim. Acta 20: 499-503, 1968
- (55) STETTEN, M.R. The metabolism of proline
at the aid of deuterium and

- isotopic nitrogen.
J. biol. 153, 1944
- (56) STETTEN, M.R. Some aspects of the metabolism of hydroxyproline studied with the aid of isotopic nitrogen.
J. biol. Chem. 181: 1949
- (57) SULMAN, F.G. Metereologische Frontverschiebung und Wetterfähigkeit.
Ärztliche Praxis, 17 998f, 1971
- (58) WEIMANN, G., BURCKHARDT, H., ROMMEL, K.
Der Kollagenstoffwechsel bei kombinierten Behandlungen der rheumatoiden Arthritis.
Med. Klin. 68: 344-349, 1973
- (59) ZIFF, M., KIBRICK, DRESNER, E.
Excretion of hydroxyproline in patients with rheumatic and non-rheumatic diseases.
J. clin. Invest. 35: 579, 1956

An dieser Stelle darf ich Herrn Dr. rer. nat.
Helmut Pratzel meinen herzlichsten Dank für
die Überlassung des Themas und die Betreuung
bei der Bearbeitung aussprechen.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Heinrich
Drexel sowie allen Mitarbeitern des Instituts,
die mich bei meiner Arbeit unterstützten.

Lebenslauf

Name: Siebert
Vorname: Rainer-Michael
Geburtstag: 2. November 1950
Geburtsort: München
Glaubens-Bekenntnis: röm. kath.
Wohnort: 8 München 40, Augustenstr. 91
Schulbildung: 1957 - 1961: Volksschule in München
1961 - 1965: Collegio P. Papio
in Ascona/Schweiz
1965 - 1966: Theresiengymnasium München
1966 - 1970: Carl-von-Linde-Gymnasium in Kempten
Abitur: 20.7.1970
Berufsausbildung: 16.10.70 - 3.8.76: Studium
der Zahnheilkunde an der
Ludwigs-Maximilians-Universität München
Approbation: 3.8.1976
Berufsausübung: 14.10.76 - 31.8.77 Stabs-
arzt bei der Deutschen Bundes-
wehr.
seit 1.10.77 Assistenz Zahnarzt
bei Dr. F. Golling, München

Rainer-Michael Siebert

Summary

1900	1900
1901	1901
1902	1902
1903	1903
1904	1904
1905	1905
1906	1906
1907	1907
1908	1908
1909	1909
1910	1910
1911	1911
1912	1912
1913	1913
1914	1914
1915	1915
1916	1916
1917	1917
1918	1918
1919	1919
1920	1920
1921	1921
1922	1922
1923	1923
1924	1924
1925	1925
1926	1926
1927	1927
1928	1928
1929	1929
1930	1930
1931	1931
1932	1932
1933	1933
1934	1934
1935	1935
1936	1936
1937	1937
1938	1938
1939	1939
1940	1940
1941	1941
1942	1942
1943	1943
1944	1944
1945	1945
1946	1946
1947	1947
1948	1948
1949	1949
1950	1950
1951	1951
1952	1952
1953	1953
1954	1954
1955	1955
1956	1956
1957	1957
1958	1958
1959	1959
1960	1960
1961	1961
1962	1962
1963	1963
1964	1964
1965	1965
1966	1966
1967	1967
1968	1968
1969	1969
1970	1970
1971	1971
1972	1972
1973	1973
1974	1974
1975	1975
1976	1976
1977	1977
1978	1978
1979	1979
1980	1980
1981	1981
1982	1982
1983	1983
1984	1984
1985	1985
1986	1986
1987	1987
1988	1988
1989	1989
1990	1990
1991	1991
1992	1992
1993	1993
1994	1994
1995	1995
1996	1996
1997	1997
1998	1998
1999	1999
2000	2000
2001	2001
2002	2002
2003	2003
2004	2004
2005	2005
2006	2006
2007	2007
2008	2008
2009	2009
2010	2010
2011	2011
2012	2012
2013	2013
2014	2014
2015	2015
2016	2016
2017	2017
2018	2018
2019	2019
2020	2020
2021	2021
2022	2022
2023	2023
2024	2024
2025	2025
2026	2026
2027	2027
2028	2028
2029	2029
2030	2030
2031	2031
2032	2032
2033	2033
2034	2034
2035	2035
2036	2036
2037	2037
2038	2038
2039	2039
2040	2040
2041	2041
2042	2042
2043	2043
2044	2044
2045	2045
2046	2046
2047	2047
2048	2048
2049	2049
2050	2050
2051	2051
2052	2052
2053	2053
2054	2054
2055	2055
2056	2056
2057	2057
2058	2058
2059	2059
2060	2060
2061	2061
2062	2062
2063	2063
2064	2064
2065	2065
2066	2066
2067	2067
2068	2068
2069	2069
2070	2070
2071	2071
2072	2072
2073	2073
2074	2074
2075	2075
2076	2076
2077	2077
2078	2078
2079	2079
2080	2080
2081	2081
2082	2082
2083	2083
2084	2084
2085	2085
2086	2086
2087	2087
2088	2088
2089	2089
2090	2090
2091	2091
2092	2092
2093	2093
2094	2094
2095	2095
2096	2096
2097	2097
2098	2098
2099	2099
2100	2100

